АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XVII. ВЫП. 4

ИЮЛЬ—АВГУСТ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1948

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор академик Б. Л. Исаченко

Зам. редактора чл.-корр. Академии Наук СССР
А. А. Имшенецкий

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

А. Ф. Войткевич, Я. И. Раутенштейн, В. Л. Рыжков,

Ф. М. Чистяков, В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ „МИКРОБИОЛОГИЯ“ ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2 КОНТОРА „АКАДЕМКНИГА“.

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакции журнала „Микробиология“

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИОФАГА НА ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ СИСТЕМЫ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Б. И. Клейн и *В. Н. Шур-Шульц*

В статьях Клейна бактериофаг рассматривался как «крайнее выражение заложенной внутри клетки способности к лизису» [2].

Согласно этой концепции, внутри бактериальной клетки существует две антагонистические группы ферментов: коагулирующих и литических, находящихся в состоянии подвижного равновесия. Литические группы уравновешиваются коагулирующими. Нарушение их корреляции сопровождается теми или другими сдвигами в жизни бактериальной клетки, и при некоторых условиях литические группы приходят к крайнему своему выражению — к бактериофагии.

Следует указать, что аналогичная точка зрения, но только по отношению к другим объектам, вытекает из новейших работ школы Опарина, а именно: Сисакяна, Кобяковой и Васильевой [10]. Эти авторы, разбирая вопрос о синтезе и распаде сахарозы у растений, пишут следующее: «В живой клетке существует равновесное соотношение между ферментативным синтезом и распадом сахарозы. Предположим, что это равновесие сохраняется, по крайней мере, благодаря действию двух ферментов: инвертазы, как носителя гидролитической функции, и другого фермента (например, фосфорилазы), при помощи которого осуществляется синтез сахарозы. При равных условиях исключение одного из двух агентов из реакции должно привести к смещению равновесия в ту или другую сторону».

В области бактериофагии заслуживают особенного внимания исследования Крисса [4, 5, 6, 7, 8] и его теория бактериофага как двухкомпонентной энзимоподобной системы. В работе Крисса [9] дана обстоятельная сводка современных представлений о бактериофаге, эта работа является одной из наиболее интересных в новейшей мировой литературе.

Весьма важную предпосылку для энзимной теории бактериофага дал Каган. Он доказал прямым экспериментом, что при воздействии бактериофага активируется способность бактериальной клетки вырабатывать экстрацеллюлярную каталазу. Частично Каган затронул также и вопрос о внутриклеточной каталазе [1].

Совершенно очевидно, что, несмотря на современные учения о «живой» природе бактериофага, основанные на данных электронной микроскопии, противоположное направление об его ферментативной природе получило в последнее время веские аргументы в свою пользу и значительную перспективность для дальнейшего развития.

Развивая концепцию Клейна о ферментативной природе бактериофага, мы в этой работе задались целью описать влияние бактериофага на ферментативный аппарат бактериальной клетки. Какие изменения вызывает бактериофаг в ее ферментативной деятельности? Для выяснения этого были поставлены опыты с рядом культур аэробных и анаэробных микробов (Aerobacter aerogenes, Pseud. aeruginosa, Cl. welchii и др.).

Большие массы 18—20-часовой агаровой культуры бактерий (1 500 млн.— 1 млрд.) с агара суспензировались в 1 мл пептонной воды, а также и в 1 мл физиологического раствора с прибавлением 0,5% углеводов (глюкозы, маннита, лактозы, мальтозы, сахарозы), бактерио-

фага и индикаторов (бромтимол-блау или лакмуса). Уже через $^1/_2$ часа после пребывания в термостате в контрольных опытах без фага наблюдалось изменение цвета индикаторов, между тем как при наличии фага цвет индикатора оставался тот же. Через 1—2 часа наблюдалось резкое изменение цвета при отсутствии фага, между тем как в пробах с прибавлением фага не было изменений или же были только слабые изменения [1].

Через 4 часа в опытах с Aerobacter aerogenes наблюдалось резкое покраснение лакмусовых сред с глюкозой, лактозой, маннитом, мальтозой, сахарозой при отсутствии фага (контрольные ряды) и только начинающееся покраснение при наличии фага (опытные ряды). В общем происходит ясно выраженная задержка в разложении углеводов бактериальными клетками под влиянием прибавления бактериофага.

Весьма интересно, что эти изменения в ферментативной деятельности бактерий происходят только при прибавлении специфического бактериофага; если же к культурам Aerobacter aerogenes прибавить фаг против Pseud. aeruginosa, то таких изменений не наблюдается. Это еще больше подтверждает специфический характер того влияния, которое оказывает бактериофаг на бактериальную клетку.

Все описанные явления наблюдались не только в пептонной воде, но и в физиологическом растворе, где не происходило размножения бактерий, что доказывалось соответствующими подсчетами. Так как число бактерий не уменьшалось через 1—2 часа после прибавления фага, то мы должны предположить, что последний оказывает непосредственное действие на ферментативный аппарат бактериальной клетки. Следует также принять во внимание, что бактериофаг здесь приходит в соприкосновение с огромным количеством бактериальных клеток; в этих опытах отношение $\frac{P\ (\text{концентрация фага})}{B\ (\text{концентрация бактерий})}$ являлось недостаточным для наступления лизиса.

Из анаэробов были испытаны культуры Cl. welchii на среде Kitt — Tarozzi с глюкозой, причем специфический бактериофаг оказывал задерживающее действие не только на кислотообразование, но также и на газообразование.

Влияние бактериофага на процессы бактериального разложения глюкозы определялось не только методом индикаторов, но также и химическим анализом разложенной глюкозы по микрометоду Hagedorn — Jensen. К густым бактериальным взвесям Aerobacter aerogenes в растворе глюкозы прибавлялся специфический фаг, гретый и негретый, определялись первоначальные количества углевода в начале опыта, затем через 1—2 часа после пребывания в термостате. При этом количество разложенной бактериями глюкозы оказывалось меньшими при наличии негретого фага, чем гретого, т. е. явно выступало угнетающее действие фага на ферментативную активность бактериальной клетки.

Обратное действие, а именно активирующее, бактериофаг оказывает на восстановительные ферменты. Действие бактериофага на активность восстанавливающих ферментов бактериальной клетки выяснилось на среде Вильсон — Блэра в ее модификации по Клейну [3]. И в культурах Aerobacter aerogenes и Pseud. aeruginosa, а также и у Cl. welchii почернение среды при прибавлении реактивов Вильсон — Блэра наступало раньше в тех пробах, к которым был прибавлен фаг, чем в пробах без фага. Уже через 1—2 часа наблюдалось почернение в пробирках с фагом, гораздо раньше, чем без него. Эти факты вполне соответствуют наблюдениям в опытах с каталазой.

---

[1] Подробные данные приведены Клейн и Шур-Шульц в работе «Влияние бактериофага на ферментативную активность непатогенных микробов» (Мікробіологічний журнал, т. X, вып. 1, 1948).

В подтверждение опытов Кагана с стафилококками были предприняты также опыты с Aerobacter aerogenes. Опыты были поставлены с большими бактериальными массами, и при этом оказалось, что при наличии бактериофага бактериальные клетки образуют больше каталазы, как экстрацеллюлярной, так и интрацеллюлярной. В контрольных пробах — без специфического бактериофага — каталазы образуется меньше. Это показывает, что бактериофаг активирует весь комплекс восстановительных ферментов бактериальной клетки, здесь также выступает связь бактериофага с ферментативным аппаратом бактериальной клетки.

В вышеупомянутой работе Сисакяна, Кобяковой и Васильевой проводится та мысль, что превращение веществ в растительной клетке осуществляется под действием не одного специфического катализатора, а «при помощи довольно сложных систем, отличающихся между собой по сложности и характеру». В соответствии с этим можно предполагать, что при контакте бактериальной клетки с бактериофагом нарушается корреляция этих сложных ферментативных систем. В наших опытах было показано активирование групп восстановительных ферментов и угнетение ферментативных групп, вызывающих разложение углеводов. Вместе с тем в отличие от работ американских авторов, признающих «живую» природу бактериофага, наши исследования говорят в пользу ферментоподобной природы бактериофага.

Выводы

1. При помощи метода больших бактериальных масс (по Клейну) на средах Гисса или в физиологическом растворе с прибавлением углеводов можно обнаружить, что бактериофаг оказывает задерживающее действие на разложение углеводов (глюкозы, мальтозы, маннита и др.) аэробными и анаэробными микробами (Aerobacter aerogenes, Pseud. aeruginosa, Cl. welchii) в течение 1—2 часов от начала опыта.

2. Такое же задерживающее действие бактериофага на разложение глюкозы бактериями (Aerobacter aerogenes) можно обнаружить при прямом исследовании разложенного сахара по методу Hagedorn — Jensen.

3. В противоположность этому бактериофаг активирует восстановительные ферменты у Aerobacter aerogenes, Pseud. aeruginosa и Cl. welchii при исследовании по методу Вильсон — Блэра.

4. Подтверждаются исследования Кагана об увеличении количества экстра- и интрацеллюлярной каталазы бактериальной клетки под влиянием бактериофага. Активизация выделения экстра- и интрацеллюлярной каталазы наблюдается не только у стафилококков, но и у Aerobacter aerogenes при воздействии бактериофага.

5. Все эти данные являются аргументами в пользу ферментоподобной природы бактериофага и существования двух антагонистических групп ферментов внутри бактериальной клетки (Клейн).

6. Изучение бактериофагии с помощью ферментологических методов является перспективным для разрешения вопроса о природе бактериофага.

Институт микробиологии
им. Заболотного
Академии Наук УССР
Киев

Получено 16. IV. 1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Каган Б. О. Влияние бактериофага на каталазу бактерий. Мікробіологічний журнал, т. 6, 1939.
2. Клейн Б. И. Теория бактериального лизиса. I. Микробиология, т. XII, вып. 1, 1943. То же. II. Микробиология, т. XIII, вып. 2—3, 1944.
3. Клейн Б. И. Усовершенствования в диагностике анаэробов газовой гангрены. Журн. микроб., эпидем. и иммуноб., № 9, 1943.
4. Крисс А. Е. К вопросу о природе бактериофага. Микробиология, т. X, стр. 430, 1941.
5. Крисс А. Е. и Рукина Е. А. О природе бактериофага. II. Очищенный бактериофаг и его свойства. Микробиология, т. XVII, стр. 176, 1948.
6. Крисс А. Е. и Рукина Е. А. О природе бактериофага. III. Роль защитных коллоидов в сохранении устойчивости бактериофага при денатурирующих воздействиях. Микробиология, т. XVII, стр. 240, 1948.
7. Крисс А. Е., Диденко С. М. и Стрельцова Е. А. О природе бактериофага. IV. Литическая активность бактериофага, как показатель состояния фагового корпускула. Микробиология, т. XVII, 433, 1948.
8. Крисс А. Е. О природе бактериофага. V. Гипотеза о строении бактериофага. Микробиология, в печати.
9. Крисс А. Е. Энзимная природа бактериофага. Успехи совр. биол., т. XVII, вып. 3, 1944.
10. Сисакян Н. М., Кобякова А. М. и Васильева Н. А. Влияние осмотической концентрации на адсорбцию и элюцию инвертазы тканями высших растений. Биохимия, т. 12, вып. 1, 1947.

О ПРИРОДЕ БАКТЕРИОФАГА

IV. ЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИОФАГА КАК ПОКАЗАТЕЛЬ СОСТОЯНИЯ ФАГОВОГО КОРПУСКУЛА

А. Е. Крисс, С. И. Диденко и Е. А. Стрельцова

Бактериофагия не всегда проявляется в своей типичной форме — лизисе. Нередко в процессе воздействия фага на бактериальные клетки последние претерпевают изменения, сходные с теми, какие наблюдаются при действии на бактерии антител: под влиянием бактериофага бактерии могут агглютинироваться, становятся более доступными фагоцитозу, приобретают способность связывать комплемент. Изучение характера изменений бактериальной клетки под влиянием бактериофага убеждает в том, что весь арсенал реактивных возможностей живого вещества приводится в движение в ответ на действие этого агента. Особенно ярко выступает многообразие клеточных реакций в явлениях изменчивости бактерий, обусловленных бактериофагом. Резкие изменения в морфологии, культуральных признаках и биохимических свойствах довольно часто наблюдаются при действии фага на бактериальную популяцию. Диапазон отклонений от нормального типа нередко настолько велик, что появляющиеся варианты можно отнести к новым разновидностям или другим видам. Эти варианты могут быть кратковременными или длительными модификациями или же мутациями, стойко сохраняющими и передающими по наследству новые свойства.

Несомненно, что характер воздействия бактериофага на бактерий не укладывается в определенную схему. И только переход через границы приспособительных возможностей бактериальной клетки в ее реакциях с бактериофагом приводит клетку к гибели — лизису.

Следующее явление привлекло наше внимание при определении защитного действия коллоидов на бактериофаг и явилось предметом специального изучения. Было подмечено в сравнительных экспериментах, что результаты титрования высушенных меловых адсорбционных комплексов, не защищенных или защищенных коллоидными веществами, получаются различными, если их учитывать через 5—7 часов и спустя 18—20 часов после установки титрационных рядов в термостат.

Спустя 5—7 часов после титрования, титры бактериофага в меловых адсорбционных комплексах, высушенных в смеси с яичным белком, нормальной лошадиной сывороткой и лактозой (Крисс и Рукина [1, 2, 3]), не отличались от титров этих смесей до высушивания, тогда как дальнейшее пребывание в термостате приводило к снижению концентрации фага в 10—100 раз. Прозрачные до того пробирки с разведениями 10^{-9}, 10^{-8} к утру мутнели, в них появлялся так называемый «вторичный рост».

Сам по себе феномен вторичного роста не представлял ничего необычного. Возникновение резистентных к бактериофагу культур наблюдал еще Д'Эрелль, и имеется значительная литература по вопросу об изменчивости бактерий под влиянием бактериофага.

Вызвало интерес то обстоятельство, что лизоустойчивость не проявлялась в титрационных рядах с дизентерийным фаголизатом или меловыми адсорбционными комплексами в смеси с защитными коллоидами до высушивания, а имела место лишь при действии сухих препара-

тов на одну и ту же культуру, служившую тест-объектом для фага в этих опытах. Исследования были продолжены.

На рис. 1 даны графически результаты опыта, в котором наблюдения за титрами проводились через каждые 2 часа. Здесь сравнивалось действие дизентерийного фаголизата («жидкий» фаг) и бактериофага из высушенной смеси мелового адсорбционного комплекса с яичным белком («сухой» фаг) на культуры Bact. dysenteriae Shiga №№ 71, 823, 913, 914, 915, 920, 1134, 1353, 1360, 1361, 1362, 1736, из которых готовился фаголизат.

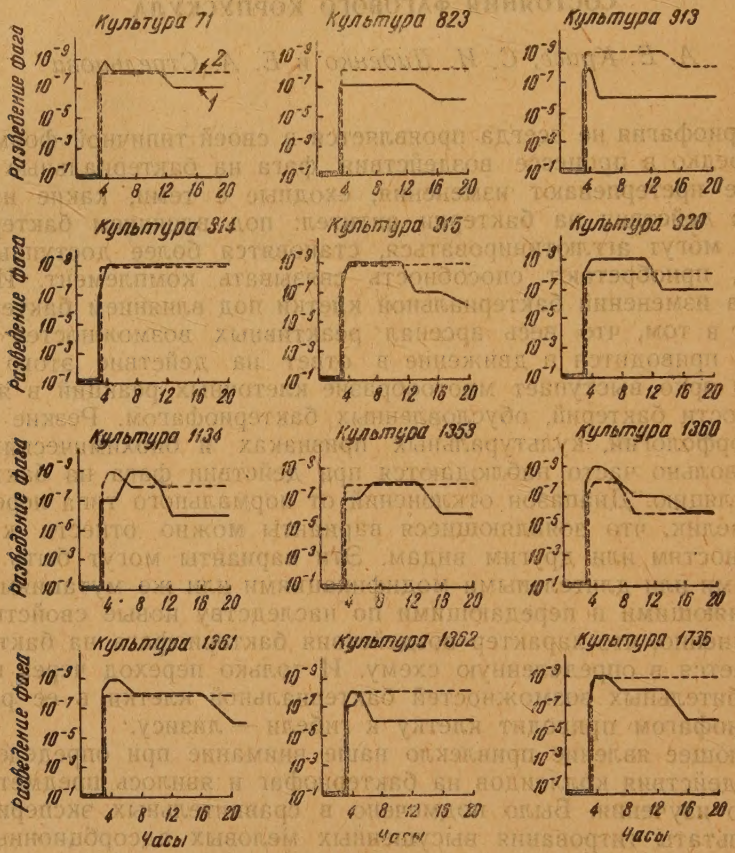

Рис. 1. Титры бульонного фаголизата и «сухого» бактериофага в различные часы наблюдений.
1 — «сухой» фаг; *2* — «жидкий» фаг

Общим для всех титрационных рядов явилось помутнение бульона в первые 3 часа из-за размножения бактерий, а затем наступление лизиса. Через 4—5 часов полное просветление наблюдалось в пробирках с разведениями 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9} жидкого и сухого фага. В последующие часы до утра титры жидкого фага удерживались на достигнутом уровне с большинством культур — пробирки с конечными разведениями оставались прозрачными, тогда как в параллельных рядах с сухим фагом произошли изменения. За исключением одного ряда с культурой № 914, в остальных началось помутнение. Вторичный рост появился в пробирках с разведениями: 10^{-9}, 10^{-8} — с культурами №№ 71, 920; 10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7} — с культурами №№ 1361, 1736; 10^{-8}, 10^{-7} — с культурами №№ 913, 1353, 1362; 10^{-7} — с культурой № 923. Время появления вторичного роста колебалось в пределах от 5 до 16 часов и зависело, как показали в дальнейшем специальные опыты, от количества оставшихся нелизированными бактериальных клеток.

После проверки чистоты культур, вызвавших помутнение бульона (важно было исключить загрязнение посторонними бактериями), стали совершенно очевидными явные различия в силе лизирующего действия жидкого и сухого бактериофагов. Из 12 бактериофагов 9, находившихся в смеси в фаголизате, осуществляли полный лизис гомологичных культур; 11 из 12 тех же фагов, но в сухих меловых адсорбционных комплексах, потеряли способность доводить лизис тех же культур до конца в конечных разведениях. Бо́льшая (культура № 913) или меньшая (культура № 1361) часть клеток не растворялась, ранее или позднее во времени появлялась вторичная волна роста.

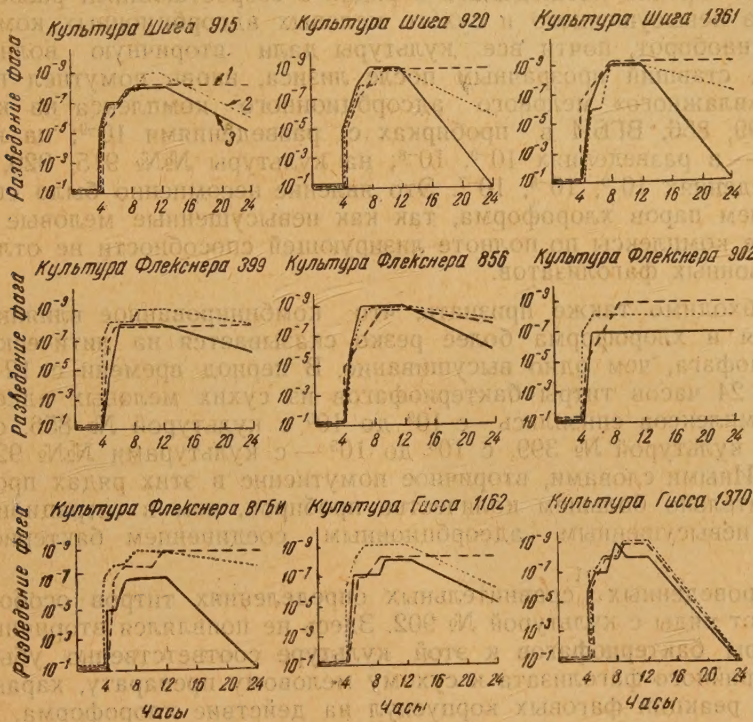

Рис. 2. Титры бульонного фаголизата и бактериофага, подвергавшегося действию хлороформа и высушивания, в различные часы наблюдений.

1 — бульонный фаголизат; *2* — меловой адсорбат фага до высушивания; *3* — меловой адсорбат фага после высушивания

Приводим другой опыт из большого числа вариантов этой серии исследований. Испытывалось комбинированное влияние высушивания и паров хлороформа на бактериофаг, адсорбированный на мелу и защищенный яичным белком. Интересно было установить, действительно ли, как утверждает Сергиенко [5], хлороформ не оказывает инактивирующего действия на фаговые частицы. С данной целью меловые адсорбционные комплексы, растертые с яичным белком, помещались на 24 часа под стеклянный колпак, где находились открытые склянки с хлороформом, а затем высушивались. Титрование дизентерийного фаголизата и мелового адсорбционного комплекса, подвергавшегося действию паров хлороформа, невысушенного и в сухом виде, производилось методом Аппельмана на культурах Bact. dysenteriae Shiga №№ 915, 920, 1361, Bact. dysenteriae Hiss — Flexner №№ 399, 856, 902, ВГБИ, 1162, 1370, служивших для приготовления фаголизата. Титры регистрировались через каждые 2 часа в течение 14 часов с момента

установки титрационных рядов в термостат, а затем через 24 часа. Они изображены графически на рис. 2.

Снижение титров бульонного фаголизата спустя 12 часов произошло только на 2 культурах из 9 (№№ 856 и 1370). В титрационном ряду с первой — вторичный рост появился в пробирке с разведением 10^{-9}, с культурой № 1370 — помутнели пробирки всего ряда, от конечного разведения до разведения 10^{-1}. Культура № 1370 легко диссоциирует, образуя фагорезистентные R-формы. Опыт с ней приведен как пример одного из возможных случаев ошибок в определении титров бактериофага, когда они учитываются через 18—20 часов.

Иная картина наблюдалась в рядах с возрастающими разведениями фага из невысушенного и сухого меловых адсорбционных комплексов. Здесь, наоборот, почти все культуры дали вторичную волну роста. Бульон, ставший прозрачным после лизиса, вновь помутнел при действии «влажного» мелового адсорбционного комплекса на культуры №№ 399, 856, ВГБИ в пробирках с разведениями 10^{-9}; на культуру №1361 — в разведениях 10^{-9}, 10^{-8}; на культуры №№ 915, 920, 1162 — в разведениях 10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}. Это явление несомненно было связано с действием паров хлороформа, так как невысушенные меловые адсорбционные комплексы по полноте лизирующей способности не отличаются от бульонных фаголизатов.

Необходимо также признать, что комбинированное влияние высушивания и хлороформа более резко сказывается на литической силе бактериофага, чем одно высушивание. В период времени с 12—14 часов до 24 часов титры бактериофагов из сухих меловых адсорбционных комплексов снизились с 10^9 до 10^6 с культурой № 856, с 10^8 до 10^6 — с культурой № 399, с 10^8 до 10^5 — с культурами №№ 920, 1361, ВГБИ. Иными словами, вторичное помутнение в этих рядах проявилось в значительно большем количестве пробирок, чем в титрационных рядах с невысушенным адсорбционным соединением бактериофага с мелом.

В проведенных сравнительных определениях титров особое место занимают ряды с культурой № 902. Здесь не появлялся вторичный рост, но титры бактериофагов к этой культуре соответственно убывали от дизентерийного фаголизата к сухому меловому препарату, характеризуя степень реакции фаговых корпускул на действие хлороформа, а затем и высушивания.

Какие же явления разыгрываются в пробирках с конечными разведениями бактериофага из меловых адсорбционных комплексов, подвергавшихся внешним воздействиям, почему там остается известное количество дающих вторичный рост, бактериальных клеток, которые обычно лизируются полностью фаголизатом или бактериофагом из невысушенных меловых адсорбционных комплексов?

В первую очередь, естественно, нужно было выяснить: сохраняется ли бактериофаг и в положительном случае, какова его концентрация в тех пробирках, где происходило вторичное помутнение? О том, что он попал в эти пробирки при разведении, можно было судить по явной картине лизиса в первые часы наблюдений — первичное помутнение, как и в пробирках с начальными разведениями, сменилось отчетливым просветлением бульона. Не исключалось допущение, что здесь благодаря определенным причинам реакция фаг + бактерии могла на каком-то этапе задержаться на стадии поглощения фага, обусловив этим недостаточную концентрацию экстрацеллюлярного бактериофага для лизиса всех бактерий.

Опыты показали, что в пробирках со вторичным ростом имеется значительное количество фаговых корпускул, их легко обнаружить даже в разведении 10^{-8} (рис. 3).

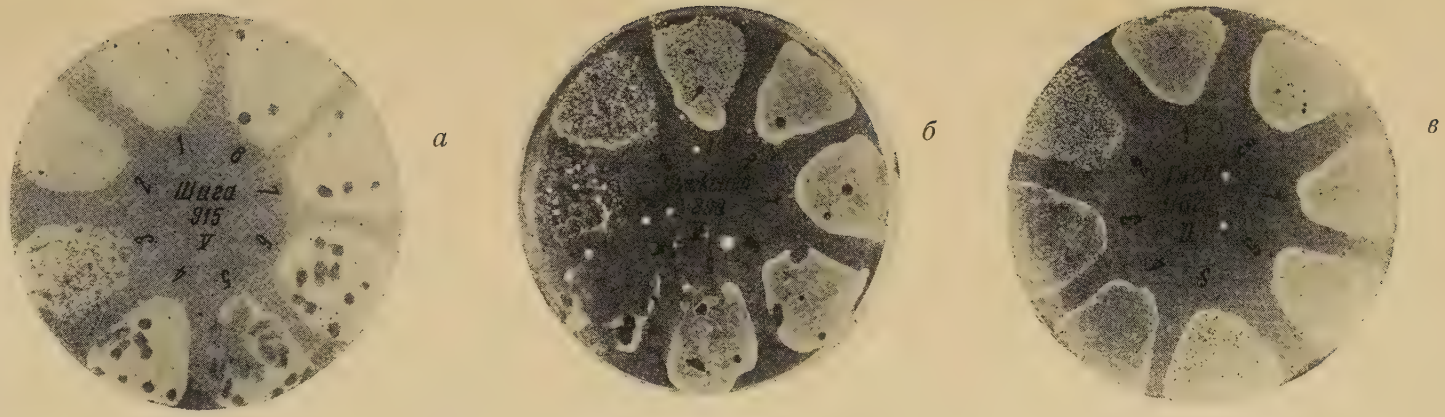

Рис. 3. Определение присутствия бактериофага и его титра в пробирках, где наблюдался вторичный рост

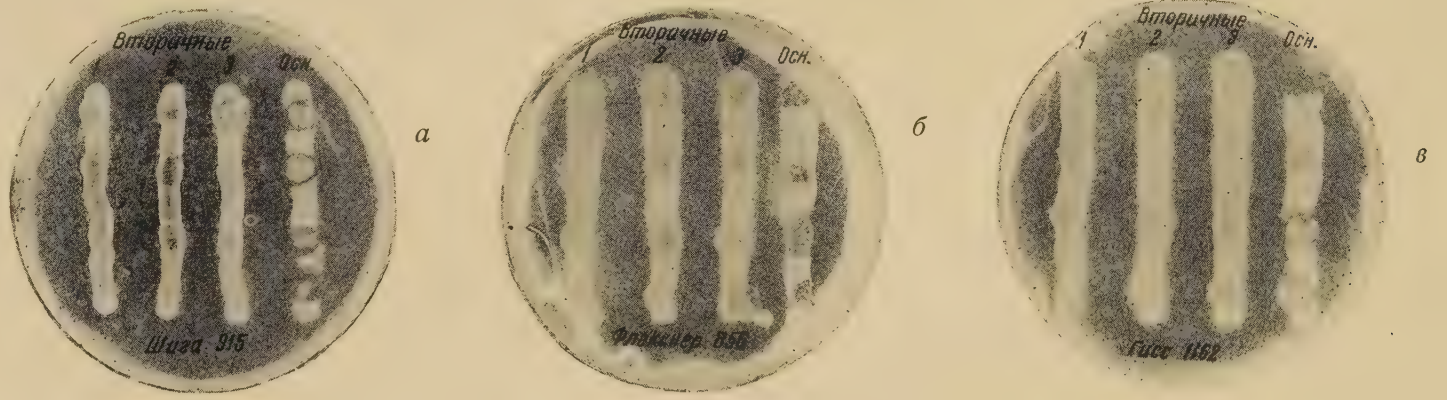

Рис. 4. Действие бактериофага из пробирок, где наблюдался вторичный рост на основную и вторичные культуры

Методика выявления бактериофага в этих пробирках и определения его титра заключалась в следующем. 0,1 мл или 0,25 мл содержимого пробирок с конечными разведениями бактериофага, где после лизиса наблюдался вторичный рост, смешивалось с 5 мл чистого бульона, и из этой смеси производились по методу Аппельмана возрастающие, кратно 10, разведения до 10^{-8}. Из каждого разведения наносилась одна петля жидкости в сектор на поверхности агара и там она растиралась с каплей соответствующей бульонной культуры 6-часового возраста. Общее число секторов в чашке Петри составляло 8, оно равнялось числу разведений данного опытного образца. Результаты — возникновение зон лизиса — определялись через 18—20 часов температурной инкубации при 37°.

На фотографиях зафиксированы картины лизиса, которые наблюдались в ряде опытов этой серии исследований. Испытывались последовательные разведения содержимого 8-й или 9-й пробирок, т. е. пробирок с разведениями 10^{-8}, 10^{-9}, где появлялся вторичный рост,— на культуре Bact. dysenteriae Shiga № 915 и на культурах Bact. dysenteriae Hiss — Flexner №№ 399 и 1162 (рис. 3).

При рассмотрении фотографий прежде всего бросается в глаза, что бактериофаг может быть обнаружен по крупным участкам лизиса или стерильным пятнам (taches vièrges), лишь начиная с разведений 10^{-4} — 10^{-5} содержимого пробирок со вторичным ростом. В начальных разведениях его присутствие или, вернее, его литическое действие маскируется размножением клеток, которые в известном числе захватываются петлей из пробирок со вторичным ростом. И нужно сказать, что это явление, когда мы пользовались обычными методами определения бактериофага, вначале давало повод к ошибочным заключениям об исчезновении фага в пробирках, где появлялась вторичная волна помутнения. Только освободившись от бактерий вторичного роста путем последовательных разведений, удалось констатировать бактериофаг. Концентрация его колоссальна — титр 10^{8}.

Таким образом, в конечных разведениях сухих препаратов бактериофаг не только не исчезает, но и накапливается в количестве, не уступающем бульонным фаголизатам или невысушенным меловым адсорбционным комплексам. Однако, в отличие от последних, здесь он не в состоянии лизировать полностью всю массу бактериальных клеток.

Логичным было следующее предположение: скорость процессов репродукции фаговых частиц замедлена, она не превосходит в нужной степени скорость размножения бактерий, благодаря чему не достигается в обычный отрезок времени критическое отношение концентраций бактериофага и бактерий, необходимое для полного лизиса. По Krueger и Northrop [8], фаголизис стафилококка происходит при критическом отношении $\frac{P\ (\text{концентрация фага})}{B\ (\text{концентрация бактерий})} = 125$, т. е. на одну бактериальную клетку должно приходиться 125 частиц фага. Избыток бактерий мог дать волну вторичного помутнения.

Проверка правильности такого предположения не требовала особо сложных опытов. Вполне достаточными для суждения были бы определения лизочувствительности клеток вторичного роста. В случае лизиса их бактериофагом из тех же пробирок с конечными разведениями вопрос мог считаться решенным в пользу высказанного предположения.

Первые опыты были проведены с бульонными фаголизатами и невысушенными меловыми адсорбционными комплексами, в конечных разведениях которых иногда также наблюдалось помутнение бульона после лизиса. Из этих пробирок производились разведения по вышеописанной методике до получения одиночных стерильных пятен и посевы на скошенный агар для выделения культур из клеток вторичного роста. Осторожным прикосновением кончика платиновой иглы к центру негативных колоний (стерильных пятен) увлекалось некоторое количество фаговых корпускул, и они суспензировались в 1 мл бульона. Капельки суспензий бактериофага наносились на поверхность агара в месте, где

перед этим узким шпателем проводились посевы, в виде полос, выделенных культур.

Во всех, без исключения, опытах через 18—20 часов в местах соприкосновения капелек суспензии фага с бактериальным ростом видны были зоны полного лизиса. Культуры из вторичного роста оказались лизочувствительными к бактериофагу, в соседстве с которым они находились в пробирках, где появлялось вторичное помутнение. Предположение о несоответствии темпов накопления бактериофага и размножения бактерий для достижения критического отношения $\frac{P}{B}$ вполне оправдывалось.

Однако, как показали дальнейшие опыты, это предположение оставалось правомерным лишь для случаев с бульонными фаголизатами или невысушенными адсорбционными комплексами: фаг — мел. Иная картина наблюдалась, когда аналогичным путем определялась лизабильность клеток вторичного роста по отношению к бактериофагу из конечных разведений меловых адсорбционных комплексов, подвергавшихся нагреванию, действию хлороформа или высушиванию.

В качестве примера приведены 3 фотографии (рис. 4). На них зафиксированы результаты действия бактериофага из разведений 10^{-8}, 10^{-9} высушенных препаратов, где возникал вторичный рост, на бактериальные культуры, выделенные из тех же пробирок, а также на основную культуру.

Испытывалось влияние фага из 4 стерильных пятен на три культуры вторичного роста, чтобы исключить элемент случайности. На фотографиях (рис. 4, *а*, *б*) изображено действие бактериофага на гомологичные культуры; на фотографии (рис. 4, *в*) — перекрестные определения, в данном случае — влияние фага пассированного с культурой Bact. dysenteriae Hiss — Flexner № 1162, на основную и вторичные культуры Bact. dysenteriae Hiss — Flexner № 856. Напомним, что бульонные фаголизаты, так же как и меловые адсорбционные комплексы, содержали смесь бактериофагов и поэтому такие перекрестные определения представляли определенный интерес для выяснения вопроса о том, насколько однотипна реакция различных дизентерийных бактериофагов на внешние воздействия.

Как видно на фотографиях, бактериофаг из пробирок со вторичным помутнением не лизировал бактерий, вызвавших эту муть,— в местах нанесения капель суспензий фага из стерильных пятен заметны лишь следы размыва полос бактериального роста. Основная культура лизировалась, но не полностью, в очагах лизиса имеется значительное число колоний клеток, противостоявших бактериофагу.

Благодаря этим исследованиям явление вторичного роста в конечных разведениях фага из меловых адсорбционных комплексов, подвергавшихся высушиванию или действию других факторов, выступило в ином освещении. Стало совершенно очевидным, что, в отличие от бульонных фаголизатов или невысушенных адсорбционных комплексов, здесь вторичный рост обусловлен фагорезистентностью клеток. Волна вторичного помутнения вызвана размножением клеток, которые приобрели устойчивость к бактериофагу в определенных, известных условиях опыта. Казалось, открывался новый путь экспериментальной изменчивости бактерий, поскольку из огромного числа работ по фагорезистентным культурам, начиная с Д'Эрелля [6] (см., например, сводку Hoder [7] об изменениях бактерий под влиянием бактериофага), известно, что возникновение признака лизоустойчивости коррелирует с утратой или приобретением ряда морфологических, культуральных, физиологических особенностей данным видом.

Поэтому представляло большой интерес выяснить характерные различия вторичных культур и основной, исходной культуры. Были изучены в сравнительном плане морфология, биохимические и серологические свойства, вирулентность, т. е. те видовые признаки, которые обычно изменяются при возникновении плюс или минус фагорезистентных вариантов.

Сравнительные исследования были проведены с основной и вторичными культурами, полученными из пробирок с конечными разведениями сухого бактериофага при его действии на культуры №№ 915, 920, 1361, 399, 856, 1162 и ВГБИ. Из каждой пробирки с разведениями 10^{-9} или 10^{-8}, где наблюдался вторичный рост, было выделено от 2 до 3 вторичных культур.

Микроскопическая картина в препаратах основной и вторичных культур дизентерийных палочек Шига, Флекснера — Гисса оказалась тождественной. Палочки не воспринимали окраски по Граму, некоторые колебания в длине и ширине их не выходили за пределы отклонений, свойственных особям бактериальной популяции. Как в основной, так и во вторичных культурах рассматривались препараты из бульонных культур 20—24-часового возраста, наблюдались делящиеся и одиночные клетки, размеры которых несколько варьировали в зависимости от стадии онтогенеза или индивидуальной изменчивости. Длинные или толстые палочки с внутриклеточной зернистостью, которые описываются у фагорезистентных форм, не встречались.

Таблица 1

Агглютинабильность основных и вторичных культур

Палочки дизентерии	Культуры	Агглютинация в разведениях сыворотки						Контроль
		1 : 100; 1 : 200; 1 : 400	1 : 800	1 : 1 600	1 : 3 200	1 : 6 400	1 : 12 800	
Шига № 915	Основная	++++	++++	++++	++++	++++		—
	Вторичная 1	++++	++++	++++	++++	++++		—
	» 2	++++	++++	++++	+++	++++		—
	» 3	++++	++++	+++	++++	++++		—
Шига № 920	Основная	++++	++++	++++	++++	++++		—
	Вторичная 1	++++	++++	+++	++++	++++		—
	» 2	++++	++++	++++	++++	++++		
	» 3	++++	++++	++++	++++	++++		—
Шига № 1361	Основная	++++	++++	++++	++++	++++		—
	Вторичная 1	+++	—	++++	—	++++		—
	» 2	++++	++++	++++	++++	++++		—
	» 3	++++	—	+++	—	—		—
Флекснера № 399	Основная	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—
	Вторичная 1	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—
	» 2	++++	++++	++++	++++	++++	++++	—
Флекснера № 856	Основная	++++	++++	++++	++++	—	—	—
	Вторичная 1	++++	++++	++++	++++	—	—	—
	» 2	++++	++++	—	—	—	—	—
	» 3	++++	++++	++++	—	—	—	—
Флекснера ВГБИ	Основная	++++	—	—	—	—	—	—
	Вторичная 1	++++	++++	+		—	—	—
	» 2	++++	++++	++++	+++	+++	+++	—
	» 3	++++	++++	++++	++++	++++	+++	—
Гисса № 1162	Основная	++++	+++	+++	++	±	—	—
	Вторичная 1	++++	+++	++++	++	+++	—	—
	» 2	++++	++++	++++	++++	—	—	—

Примечание. ++++ полная агглютинация; +++, ++, + промежуточные степени агглютинации; — отсутствие агглютинации.

Никаких различий в сбраживающей способности, являющейся существенным дифференциальным признаком для бактерий кишечно-тифозной группы, также не удалось обнаружить. Основные и вторичные культуры дизентерийных палочек Шига на пептонно-дрожжевой воде с лакмусом и дополнительными источниками углерода в виде маннита, глюкозы, мальтозы, сахарозы и лактозы подкисляли среду с глюкозой; культуры дизентерийных палочек Флекснера — среды с маннитом, глюкозой и мальтозой; культуры дизентерийных палочек Гисса — среды с маннитом и глюкозой. По этим биохимическим свойствам вторичные культуры не отклонялись от нормального типа. Их резистентность к бактериофагу не сопровождалась утратой или приобретением признаков, они не могут быть рассматриваемы как плюс- или минус-варианты. Между тем возникающие при действии бактериофага лизоустойчивые формы, как известно, теряют способность осуществлять те или другие ферментативные процессы, что чаще всего происходит, или реже — начинают проявлять не свойственное им ферментативное действие.

Еще более неожиданной оказалась одинаковая агглютинабильность основных и вторичных культур (табл. 1). Почти все исследователи, работавшие в этой области, приходят к согласному выводу о серологической разнокачественности исходной и фагорезистентной форм. Выделенное нами значительное количество лизоустойчивых культур из конечных разведений со вторичным ростом не только давали положительную ре-

Таблица 2

Вирулентность основных и вторичных культур

Палочки дизентерии	Культуры	Выжило мышей через:				
		1 день	2 дня	3 дня	4 дня	5 дней
Шига № 915	Основная	3	3	3	3	1
	Вторичная 1	2	1	1	—	
	» 2	1	1	1	1	1
	» 3	3	3	1	1	1
» № 920	Основная	3	1	—		
	Вторичная 1	2	2	1	1	1
	» 2	3	2	2	1	1
	» 3	3	3	3	2	1
» № 1361	Основная	2	2	2	—	
	Вторичная 1	3	1	—		
	» 2	2	1	1	1	—
Флекснера № 399	Основная	1	1	1		
	Вторичная 1	3	2	2		
	» 2	2	2	2		
» № 356	Основная	3	3	3		
	Вторичная 1	3	3	3		
	» 2	3	3	2		
	» 3	3	3	3		
» ВГБИ	Основная	2	2	2		
	Вторичная 1	2	2	2		
	» 2	3	2	2		
	» 3	3	2	2		
Гисса № 1162	Основная	3	2	2		
	Вторичная 1	2	2	2		
	» 2	3	3	3		

Примечание. Вирулентность каждой культуры — основной и вторичной — испытывалась на трех мышах; доза бактерий составляла 500 млн.

акцию агглютинации с неразведенной агглютинирующей сывороткой, но и нередко агглютинировались полностью на пределе титра примененной сыворотки, т. е. в разведении последней 1 : 12 800 (например, агглютинационные ряды со вторичными культурами № 399). Данное обстоятельство исключает предположение о групповых агглютининах, оно указывает на идентичность в серологическом отношении основных и вторичных культур.

По вирулентности — иногда единственный признак, выпадающий у лизоустойчивого варианта (например, авирулентный мутант чумной палочки Покровской [4, отличающийся от исходной формы только невирулентностью), вторичные культуры не отличались от основных. Те колебания, которые наблюдались в числе выживших мышей, явно определялись индивидуальной восприимчивостью животных (табл. 2).

Здесь следует заметить, что факт отсутствия изменений в вирулентности вторичных культур, не лизирующихся сухим бактериофагом, должен быть принят во внимание в практике фаготерапии дизентерии. Обычно судят о полноценности препаратов сухого дизентерийного бактериофага по титрам, полагая, что достаточная концентрация фага в организме обеспечит лизис возбудителей инфекции. Недостаточность одного этого критерия становится очевидной. Несмотря на высокий титр, сохраняется возможность неполного лизиса и размножения оставшихся клеток, не утративших своей вирулентности.

Итак, отчетливо определилось тождество основных и вторичных культур. Последние не отличались по морфологии, культуральным признакам, биохимическим и серологическим свойствам и вирулентности от исходных форм. Они не способны были лишь лизироваться сухими бактериофагами, тогда как бульонные фаголизаты или фаги из невысушенных меловых адсорбционных комплексов оказывали на них полное лизирующее действие.

Вполне логичным был вывод, что эти вторичные культуры являются показателем измененной, пониженной активности бактериофага. Бактериальные клетки не «изменились», изменилась литическая активность фага, характеризуя с внешней стороны реакцию фаговых корпускул на внешние воздействия, их состояние после высушивания, нагревания или пребывания в парах хлороформа.

Выводы

Проведенные исследования показали, что на пути к деструкции фаговых частиц, которая учитывается количественными методами, титрованием, по уменьшению числа их, возможен этап ослабления силы литического действия, отнюдь не сопровождающийся какими-либо изменениями в специфичности или способности к репродукции корпускул фага. В конечных разведениях сухого фага, где происходит вторичный рост, воспроизведение бактериофага доходит до максимального титра, а извлеченный оттуда фаг способен лизировать (но не полностью!) основную бактериальную культуру.

С помощью защитных коллоидов, при известной дозировке внешних факторов, удается сохранить исходную концентрацию фаговых частиц, но далеко не во всех этих случаях оказывается возможным воспрепятствовать мягкой денатурации корпускул бактериофага, следствием чего является уменьшение литической активности их.

С данной точки зрения нетрудно понять механизм появления вторичных культур. Если представить себе бактериальную популяцию состоящей из особей, разнородных в своей лизоустойчивости, что, учитывая индивидуальную изменчивость клеток, вряд ли может быть оспариваемо, то, естественно, полнота лизирующего действия бактериофага будет определяться его способностью охватить весь диапазон колебаний в фагосенсибельности элементов культуры бактерий. При достаточной

активности и концентрации корпускул фага будут лизироваться также клетки, стоящие по своему отношению к бактериофагу на грани фагорезистентности, и, наоборот, эти клетки сохранятся в случае контакта их с фагом, обладающим пониженной активностью.

Значение проведенных исследований собственно и заключается в том, что они позволили выявить среди многообразия реакций фаг — бактерии, в которых оба компонента являются переменными величинами, тип реакции, обусловленный экспериментально вызванным изменением только одного компонента — бактериофага. С внешней стороны такой тип реакции тоже дает картину неполного лизиса и возникновения вторичного роста, однако, в отличие от случаев появления истинных вторичных культур, вызванных изменчивостью клеток, здесь в основе явлений лежит отбор нормальных, но относительно более устойчивых особей, которых не в состоянии лизировать бактериофаг с искусственно ослабленной активностью. Эти клетки нормальны в том смысле, что обычными методами исследований не удается найти черты различия между ними и лизочувствительными индивидуумами, они лизируются бульонными фаголизатами и фагами из невысушенных адсорбционных комплексов и дают лишь вторичный рост в конечных разведениях бактериофага, подвергавшегося физико-химическим воздействиям.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР и
Центральный государственный
научный контрольный институт
им. Тарасевича
Москва

Получено 24. XI. 1947

ЛИТЕРАТУРА

1. Крисс А. К вопросу о природе бактериофага. Микробиология, т. X, стр. 430, 1941.
2. Крисс А. и Рукина Е. О природе бактериофага. II. Очищенный бактериофаг и его свойства. Микробиология, т. XVII, стр. 176, 1948.
3. Крисс А. и Рукина Е. О природе бактериофага. III. Роль защитных коллоидов в сохранении устойчивости бактериофага при денатурирующих воздействиях. Микробиология, т. XVII, стр. 240, 1948.
4. Покровская М. Авирулентный мутант Bact. pestis. Вестн. микроб., эпидем. и параз., т. XIII, стр. 3, 1934.
5. Сергиенко Ф. Основные принципы методики изготовления дизентерийного бактериофага в сухом виде на плотной питательной среде. Журн. микроб., эпидем. и иммуноб., № 4—5, стр. 4, 1943.
6. Д'Эрелль. Бактериофаг и его значение для иммунитета. Москва, 1926.
7. Hoder F. Bakterienveränderung durch Bakteriophagenwirkung. Verl. Gust. Fischer, Jena, 1932.
8. Krueger A. and Northrop J. The kinetics of the bacterium bacteriophage reaction. J. Gen. Physiol. (Am.), v. 14, p. 223, 1930

ПОЛУЧЕНИЕ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР ВОДОРОСЛЕЙ ПРИ ПОМОЩИ КОМБИНИРОВАННЫХ СРЕД

С. В. Горюнова

Выясняя химический состав продуктов водорослей как их прижизненных выделений, мы столкнулись с необходимостью получения бактериологически чистых культур этих организмов.

Приступая к этим исследованиям и просматривая соответствующую литературу, мы, так же как и другие, убеждаемся в противоречивости толкования термина «чистая культура» у водорослей.

Так, если в бактериологии объяснение этого понятия не составляет особых затруднений, потому что «чистая культура», т. е. культура бактерий, произрастающая в отсутствие других видов микроорганизмов, часто совпадает с действительно индивидуальной культурой, выросшей из одной клетки (быстрота роста большинства сапрофитных бактерий на искусственных питательных средах этому способствует), то в альгологии этот термин может пониматься двояко: и в смысле альгологической чистоты культуры и в смысле отсутствия сопровождающих водоросль грибов и бактерий.

Получение культуры водорослей из одной клетки не обеспечивает еще очищения ее от бактериального загрязнения, и, наоборот, бактериологически чистая культура может быть не только непосредственным потомством одной клетки, но представлять альгологическую смесь разных видов и даже родов водорослей.

Во избежание создающихся, таким образом, недоразумений Pringsheim [5] в свое время было предложено различать шесть типов культуры водорослей, которые полностью охватывают все вероятные комбинации их.

Такое деление является существенно необходимым и значительно облегчает взаимопонимание исследователей. Но, к сожалению, еще и до сих пор в изложении некоторых авторов бывает трудно установить, с каким именно «типом» чистой культуры они имеют дело.

Основные способы получения чистых культур водорослей всех вариантов в принципе сходны с таковыми же, применяемыми в бактериологической практике.

Большинство исследователей для этих целей использует метод пластинок, т. е. твердых питательных сред: желатины, агар-агара и кремневокислого геля. Для одноклеточных форм зеленых водорослей часто применяется микроманипулятор и капиллярные пипетки.

Но все последние микрургические способы не дают возможности получения культур, свободных от бактерий, особенно тех видов, которые обладают слизистыми покровами.

В последних случаях многие авторы применяют промывание культур при центрифугировании или воздействие на них химических реагентов, например: брома, иода, сернокислой меди, хлора и т. д.

Однако, несмотря на применение этих и многих других известных приемов, до сих пор культивирование водорослей в лабораторных условиях в бактериологически чистой культуре представляет для исследователей серьезные затруднения.

И если ряд одноклеточных форм, таких, как, например, Chlorella, давно освоен в этом отношении, то случаи выделения других видов водорослей в бактериологически чистой культуре насчитываются единицами. Особенные трудности вызывают в этом отношении синезеленые водоросли.

Так, по литературным данным известно, что Allison и Morris [2] очищали синезеленые водоросли при помощи облучения их. Pringsheim [4] воспользовался способностью некоторых из них к образованию гормогоний, которые при сильном встряхивании отделялись от общей массы водорослей и при высевах давали начало чистым культурам. Dé [3] выделил культуру Nostoc на пластинках кремнекислого геля, используя неравномерность роста кончиков нитей водорослей и сопровождающих их бактерий. Гаевская [1] при получении массового стерильного материала предложила комбинированную стерилизацию водорослей, чередуя промывание их питательной средой, растворами риванола и иода. Во многих случаях этот метод был удачен, даже в применении к синезеленым водорослям, из которых наиболее устойчивыми к протравам оказались Coelosphaerium и Lyngbya aerogineo-coerula, как имеющие более мощные слизистые покровы.

Мы в процессе своих исследований выработали следующую методику выделения альгологически и бактериологически чистых культур водорослей.

Пробы воды из водоема, обычно в 1—2 л, хорошо взбалтывались и разливались в толстостенные химические стаканы емкостью от 500 до 1 000 $см^3$. В каждый из них затем доливался минеральный питательный раствор различного состава, разбавленный вначале в 5—10 раз. Разбавление среды на первых этапах приучения культуры к лабораторным условиям необходимо: нам неоднократно приходилось наблюдать полную гибель организмов при непосредственном перенесении их из естественных водоемов в искусственную среду. Через несколько дней уже можно было ясно различить, какая из сред наиболее благоприятна для роста растений. После этого с помощью нескольких высевов на оптимальную питательную среду, вначале также разбавленную, почти естественно создавалась накопительная культура определенного вида водорослей.

В частности, для изучаемого нами вида Oscillatoria наиболее благоприятной оказалась питательная среда такого состава: на 1 л водопроводной воды $Ca(NO_3)_2$ — 0,5 г; KH_2PO_4 — 0,3 г.; $MgCl_2$ — 0,1 г; $FeSO_4$ — 10 мг; молибдена — следы; ваннадия — следы.

Из нее мы делали посевы, с предварительным разбавлением, на плотную агаровую среду (0,5—1,0%) того же минерального состава. В таких случаях обычно получалась смесь не больше чем из двух, редко трех видов.

Периодические пересевы отдельных колоний водорослей на плотную минеральную среду постепенно очищали культуру от основной массы сопутствующих организмов, т. е. доводили ее до состояния «персистентной культуры», содержащей немногие или даже один вид бактерий.

Примесь эта обычно не вредит росту данного вида, и в практике такая культура часто противополагается «абсолютно чистым культурам».

Сложность окончательной очистки культуры, как нами было потом установлено, во всех случаях выделения водорослей, как зеленых, диатомовых, так и синезеленых форм, объясняется присутствием неспороносных, слизеобразующих бактерий, оболочка которых обладает способностью крепко прилипать к оболочке водорослей.

Это случайное, но вместе с тем и довольно обычное сочетание их с

синезелеными водорослями, также образующими слизь, вполне объясняет особенную трудность очистки последних.

Пытаясь все же получить абсолютно чистую культуру изучаемого нами вида синезеленой водоросли Oscillatoria, мы вначале пытались просто отмыть ее стерильным питательным раствором, приспособив для этой цели специальный приборчик, позволяющий создать в стерильных условиях проточную среду. Время от времени мы проводили даже сильное отсасывание (прибор был соединен с водоструйным насосом), надеясь в какой-то мере удалить слизь и с ней вместе бактерии, но опыт не имел успеха.

Тогда мы перешли к другим способам, стараясь удалить бактерии или посредством изменения температуры и кислотности среды, или растворением слизи и действием соответствующих протрав (иода, брома, серебра, сернокислой меди, хлора, ривапола, некоторых антисептиков и антибиотиков), или комбинируя и то и другое, но ни в одном из перечисленных случаев мы не получили благоприятных результатов.

Неудачу всех применяемых протрав мы объясняем наличием стойкой слизистой оболочки у самой бактерии, являющейся для нее хорошим защитным средством.

Метод разбавления, рекомендуемый Pringsheim [4] для получения чистых культур некоторых синезеленых водорослей, был неприемлем для изучаемого нами объекта по двум причинам: 1) этот вид не образует гормогоний и 2) Oscillatoria является подвижной формой и в силу этого обладает способностью после любого встряхивания собираться в общий плотный комок, разбить который на отдельные нити вторично в стерильных условиях не представляется возможным.

Непригоден был также и метод Dé [3] с пластинками из кремневокислого геля, потому что сравнительно большая влажность последних обеспечивает большее движение водорослей, а вместе с ним и беспорядочное растаскивание по поверхности чашки бактерий. Сильное подсушивание вызывает за короткий срок растрескивание пластинок, что также неприемлемо при длительной культуре.

Потерпев неудачу при испытании всех вышеперечисленных методов очистки культуры синезеленой водоросли Oscillatoria, мы направили свои исследования по линии подыскания питательной среды, обеспечивающей одновременное развитие как водорослей, так и бактерий с тем, чтобы установить видимые очаги последних.

Вполне понятно, что такой средой могли быть только питательные растворы, содержащие в какой-то степени примесь органических веществ.

Трудность подбора среды заключалась в подыскании условий, обеспечивающих оптимальный рост водорослей и задерживающих, но не исключающих совсем роста бактерий. Различное отношение водорослей к присутствию органических веществ очень усложняло эту задачу.

Так, оказалось, что синезеленая водоросль Oscillatoria, так часто встречаемая в загрязненных источниках и в силу этого принимаемая многими авторами за своеобразный показатель степени обогащения водоемов органическим веществом, в лабораторных условиях в смеси с бактериями очень капризна в противоположность многим зеленым формам к процентному содержанию органических веществ в питательных средах.

Оказалось также, что сопровождающие водоросль слизистые бактерии, слабо развиваясь на сусловых средах, неплохо растут, если последние разбавлены в 50—100—200 и даже 300 раз минеральным раствором.

Маневрируя при составлении питательной смеси, мы нашли, что наилучшими концентрациями сусла для зеленых и диатомовых водорослей будут разведения в 50 и 100 раз; для синезеленых значительно больше, т. е. в 200 и даже 300 раз.

Применение подобных сред с 5—6% содержанием агара позволило нам в очень короткий срок (2 месяца) выделить чистые культуры зеленых водорослей.

При выделении чистых культур зеленых водорослей мы производили посев на чашки Петри с вышеуказанной питательной средой обычным способом, т. е. нанося одну каплю взвеси водорослей из жидкой культуры после соответствующего разбавления на середину чашки и тщательного затем размазывания ее по поверхности агаровой пластинки.

Обычно изолированные колонии бактерий появляются на 2—3-й день. Рост водорослей начинается значительно позднее — через неделю, две.

С помощью лупы отыскивая свободные от бактерий колонии водорослей, мы переносили их платиновой иглой в пробирки с жидкой минеральной средой, одновременно производя проверку на чистоту культуры с помощью высевов в МПБ из той же колонии водорослей.

Удачно выбранные колонии при первом же пересеве могут дать бактериологически чистые культуры. Несмотря на это, мы в своих исследованиях выделенную культуру после двух-трех пересевов обычно снова проверяли на чистоту, повторно отвивая в МПБ. Последний выдерживался 10 суток.

Очистка культуры синезеленой водоросли Oscillatoria сопряжена и в данном случае с большими затруднениями. Осложнения вызываются в первую очередь значительно более замедленным ростом ее на искусственных питательных средах, а именно в течение 3—4 недель, вместо 1—2, как у зеленых, т. е. столь длительный срок вполне обеспечивает сильное разрастание по поверхности чашки сопутствующих бактерий, значительно уменьшая тем самым стерильную поверхность агара.

Большим препятствием при очистке этих водорослей является также и отсутствие строго оформленных колоний на твердых питательных средах.

Получить чистую культуру Oscillatoria на комбинированной питательной среде нам удалось только после применения штрихового посева, при котором вдоль проведенной черты сосредоточиваются колонии бактерий, а нити водорослей распространяются в стороны.

Для отвивок мы брали наиболее удаленные от штрихов кончики нитей. Однако при посевах большинство из них (до 90—95%) не давало роста. Причина этого явления для нас неясна. Может быть, это связано с неравноценностью отрываемых частей нити или с внесением малого количества посевного материала в минеральную питательную среду (явление, известное для дрожжей). Возможно также и то и другое. Во всяком случае результаты отвивок мы могли учитывать только через 2—3 месяца после посева.

Через несколько пересевов чистота культуры проверялась повторно высевами в МПБ.

Учитывая возможность присутствия среди слизистых бактерий в культурах водорослей и азотобактера, мы при проверке на чистоту культуры дополнительно к МПБ ставили контроль со средой Эшби.

Выводы

1. Для получения накопительных культур водорослей, взятых из естественных водоемов, необходимо на первых этапах работы пользоваться сильно разбавленными минеральными растворами.

2. Для очистки от основной массы сопутствующих бактерий и грибов культура водорослей проводится через твердые питательные среды того же минерального состава

3. Для получения бактериологически чистых культур водорослей применяется твердая минеральная среда с добавлением от 0,2 до 1% жидкого сусла.

4. Контроль на чистоту культуры осуществляется пересевами в МПБ и в жидкую среду Эшби.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 5. IV. 1947

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаевская Н. С. IV. Новый метод получения бактериологически чистых культур водорослей в короткие сроки времени. Бюлл. Моск. о-ва испыт. природы, отд биологии, т. 1 (2), 1946.
2. Allison F. and Morris H. Nitrogen fixation by blue-green algae. Science, v. 71 p. 221, 1937.
3. Dé P. The rôle of blue-green algae in nitrogen fixation in rice fields. Proc. Roy Soc. B., v. 127, p. 121, 1939.
4. Pringsheim E. Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen II, III, IV. Beitr. Biol. Pfl., Bd. 12, S. 1, 49, 413, 1914. Цит. по Pringsheim [5].
5. Pringsheim E. Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. V. Methoden und Erfahrungen. Beitr. Biol. Pfl., Bd. 14, S. 283, 1926.

ВЛИЯНИЕ ГРАМИЦИДИНА С НА МОРФОЛОГИЮ И ФИЗИОЛОГИЮ МИКРОБОВ

II. ВЛИЯНИЕ ГРАМИЦИДИНА С НА ПИГМЕНТООБРАЗОВАНИЕ У СТАФИЛОКОККОВ

Н. В. Крупин

Пигмент является одним из своеобразных продуктов обмена веществ у ряда так называемых пигментных бактерий. В большинстве случаев пигментообразование у микробов имеет настолько постоянный характер, что оно рассматривается как видовой признак. Однако известно, что при изменении условий культивирования бактерий характер пигмента у них или по крайней мере интенсивность образования его нередко весьма существенно изменяется. Это обстоятельство служит как бы показателем чувствительности бактерий к таким изменениям и видимым выражением реакции их на те или иные воздействия внешней среды.

Хотя физиологическое значение пигментообразования для бактерий в большинстве случаев остается еще не выясненным, тем не менее все же можно считать, что потеря или ослабление этой функции указывает на какое-то нарушение обычного течения обменных реакций у них. По-видимому, в некоторых случаях по изменениям хромогенной функции можно судить о наличии неблагоприятного влияния на бактерий различных физических и химических факторов.

В связи с этим нам казалось целесообразным изучить влияние на пигментообразование некоторых антибиотиков, в частности грамицидина. Возникал вопрос: нельзя ли, таким образом, уловить действие на бактерии таких количеств грамицидина, которые находятся за пределами его минимальной бактериостатической дозы и которые при обычных методах исследования признаются неактивными?

С целью изучения данного вопроса мы многократно выращивали 12 культур стафилококков (7 золотистых, 2 лимонножелтые и 3 белые) на простом и кровяном агаре, содержащем грамицидин в количестве 0, 6, 12, 25 и 50 гамм в 1 мл.

На простом грамицидиновом агаре большинство наших культур давало рост только при наличии в 1 мл среды не более чем 12 гамм грамицидина. Лишь культуры № 1 и № 104 почти всегда вырастали и в присутствии 25 гамм.

На кровяном агаре все стафилококки росли лучше, чем на простом. Они постоянно вырастали в присутствии 25, а в части случаев даже 50 гамм грамицидина в 1 мл среды, т. е. обнаруживали в этих условиях несколько бо́льшую устойчивость к грамицидину.

Наличие и характер пигмента в культурах учитывались нами через 24, 48 и 120 часов.

Опыты показали, что способность стафилококков продуцировать пигмент ни в какой мере не ослабевает под влиянием суббактериостатических доз грамицидина. Наоборот, имеются основания говорить о стимулирующем действии грамицидина на пигментообразование у этих микробов, особенно у золотистых и лимонножелтых культур.

Золотистые стафилококки на агаре с грамицидином образовывали пигмент, как правило, быстрее и интенсивнее, чем на простом агаре.

В ряде случаев на простом агаре они в течение нескольких дней выглядели серо-белыми, а в присутствии грамицидина уже через сутки имели кремовый, а позднее яркозолотистый цвет.

То же можно сказать и о лимонножелтых культурах. На простом агаре они давали пигментацию только к 3—5-му дню и то лишь не резко выраженную. На агаре же с грамицидином они уже через сутки были заметно окрашены, а через 48 часов цвет их становился интенсивно желтым.

У белых стафилококков соответствующие различия в пигментообразовании выражены слабее, но все же нередко в присутствии грамицидина белый цвет культуры был более насыщенным.

Мы также не наблюдали неблагоприятного влияния грамицидина на пигментообразование и при выращивании стафилококков на кровяном агаре. Обычно и в этих случаях цвет культуры в опытных посевах был таким же, как и в контрольных, а иногда даже несколько более ярким. Даже тогда, когда благодаря относительно высокой концентрации грамицидина рост заметно задерживался и вырастали лишь единичные колонии, они были всегда достаточно хорошо пигментированы.

В качестве иллюстрации к сказанному в таблице приведены результаты нескольких опытов. В этой таблице указан цвет пигмента у двухсуточных культур на простом грамицидиновом агаре и у пятисуточных — на кровяном. На последнем пигментообразование наступает обычно позднее и бывает менее выраженным.

Таблица

Влияние грамицидина на пигментообразование у стафилококков

Среда	№ культуры	Содержание грамицидина в 1 мл агара в гаммах и цвет пигмента				
		0	6	12	25	50
Простой агар	209	Золотистый	Золотистый	Золотистый	—	—
	109	Кремовый	»	»	—	—
	85	Светлосерый	»	»	—	—
	24	»	»	»	—	—
	56	»	Лимонный	Лимонный	—	—
	1	Белый	Белый	Белый	Белый	—
Кровяной агар	209	Бледнозолотистый	Бледнозолотистый	Бледнозолотистый	Золотистый	—
	105	Серый	Кремовый	Кремовый	Светлозолотистый	Светлозолотистый
	74	Бледножелтый	Лимонный	Лимонный	Лимонный	Лимонный
	108	Светлосерый	Белый	Белый	Белый	—

Примечание: — означает отсутствие роста.

Как видно из этой таблицы, усиление пигментообразования у стафилококков в присутствии бактериостатических доз грамицидина совершенно бесспорно. Этот факт мы склонны объяснять следующим образом.

Обычно при обильном и сплошном посеве пигментообразующих микробов на плотные питательные среды интенсивность пигментообразования в различных участках культуры бывает почти всегда различной. Как правило, в центральной части посева пигмент образуется слабо, а по краям и там, где вырастают лишь изолированные колонии, это явление выражено более резко. Также и рост микробов по краям бывает наиболее сочным и обильным.

В центральных участках густого посева, благодаря чрезмерно тесному расположению микробных клеток, создаются неблагоприятные усло-

вия для размножения. По этой причине оно здесь быстро приостанавливается, а вместе с ним приостанавливается и пигментообразование. Центральные участки такого посева бывают почти совершенно свободными от пигмента.

Наоборот, по краям посева и там, где он менее густ, создаются лучшие условия для размножения и потому рост культуры в этих местах достигает более высокой степени и сопровождается интенсивным пигментообразованием.

Повидимому, на средах, содержащих суббактериостатические дозы грамицидина, могут развиваться далеко не все засеянные на них микробные клетки. Часть из них погибает или по крайней мере не размножается, и только более устойчивые особи приспосабливаются к данным условиям, дают рост. Присутствие в среде грамицидина, препятствуя размножению части бактерий, тем самым как бы делает посев менее густым и создает более благоприятные условия для размножения относительно устойчивых к нему особей, а следовательно, и лучшие условия для пигментообразования.

Таким образом, стимулирующее действие суббактериостатических доз грамицидина на пигментообразование у стафилококков, с нашей точки зрения, имеет лишь косвенный характер, а не является результатом непосредственного воздействия его на этот процесс.

Выводы

1. Грамицидин в суббактериостатических дозах не угнетает пигментообразование у стафилококков. Наоборот, последнее в присутствии небольших количеств грамицидина становится даже несколько более интенсивным.

2. Стимулирующее действие суббактериостатических доз грамицидина на пигментообразование, повидимому, не связано с прямым действием его на этот процесс, а носит лишь косвенный характер и обусловливается частичной задержкой размножения микробов.

Институт микробиологии и эпидемиологии и Кафедра микробиологии Мединститута
Свердловск

Получено 28. II. 1948

ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ BACT. DELBRÜCKII

З. А. Канунникова

Из литературы известно, что активность большинства энзимов не постоянна в течение жизни культуры и значительно изменяется с возрастом культуры. В начале роста культуры активность обычно небольшая, затем она повышается, доходит до максимума и вновь идет на снижение (Wooldridge, Knox и Glass [12] и др.). Причина изменения энзиматической активности объясняется авторами различно.

Wooldridge и Glass [13] показали, что эти изменения связаны с фазой роста культуры. Наибольшая активность наблюдалась в суспензии, взятой из основной культуры в течение логарифмической фазы роста. Такие же данные были получены и другими авторами: Gale [7], Gale и Stephenson [5], причем максимальная активность была в период, когда клетки переставали делиться. В других работах — Yudkin [14], Gale и Heyningen [6] подобные изменения активности объясняются изменением состояния клеточной суспензии. Последнее зависит, как указывают авторы, от многих причин, например от различной проницаемости клеточной оболочки, влияния на клетку физических и химических изменений среды вследствие метаболизма клеток и т. д.

В нашей предыдущей работе [2] было показано, что бактерии (Bact. Delbrückii) в процессе своего развития претерпевают изменения как в отношении величины клеток, так и в отношении их способности к размножению и бродильной активности. Было также показано, что возраст бактерий в посевном материале сказывается на их развитии на свежих питательных средах. Чем старше посевной материал, тем труднее получить на свежих питательных средах бактерии с нормальной способностью к росту и бродильной активностью. Поведение бактерий в отсевах объясняется возрастным состоянием самих клеток, а не продуктами метаболизма, которые вносятся вместе с посевным материалом.

Цель данной работы — проследить возрастное изменение энзиматической активности Bact. Delbrückii на промытых суспензиях.

Так как в работе с суспензиями необходимо пользоваться прозрачными средами, то первые опыты были поставлены для выяснения возможности развития Bact. Delbrückii на подобных средах. Как и в предыдущей работе, среда содержала 10% сахара и 0,1% фосфатов, но вместо 3% солодовых ростков прибавлялась вытяжка из 6% солодовых ростков и 3% дрожжевого автолизата. Увеличение дозировки источников азота было сделано с целью повышения питательности среды, так как по предварительным опытам выяснилось, что экстракт обладает меньшей активностью, чем сами ростки (Иерусалимский и Канунникова [1]).

На прозрачной среде такого состава удавалось получить хороший рост культуры Bact. Delbrückii.

После предварительных экспериментов ставились опыты с суспензиями. Культура, выросшая на вышепоименованной среде, центрифугировалась, промывалась фосфатным буфером 1/15 *N*; pH = 6. Сгущенный осадок переносился в колбы, содержавшие, кроме буферного раствора,

раствор следующего состава: сахарозы 2%, $MgSO_4$ — 0,02%, $MnSO_4$ — 0,001% и $FeSO_4$ — 0,001%.

Колбы ставились в термостат на 4 часа при 47°. После 4 часов производилось определение кислотности путем титрования из микробюретки 0,1 *N* щелочью с индикатором по Андерсену (метиловая синь + метилкрасная). Контролем являлась суспензия, оттитрованная щелочью сейчас же после ее приготовления. Общее число клеток в суспензии определялось по несколько измененному методу Королева [3]. Количество клеток, способных размножаться, определялось методом предельных разведений. Этот метод несовершенен, но в отношении Bact. Delbrückii он дает лучшие результаты по сравнению с методом высева на чашки.

При подсчете количества живых клеток выяснилось, что в течение опыта число их значительно уменьшалось. Бактерии или вымирали при данных условиях, или теряли способность прорастать на свежих питательных средах.

Подобного рода указания имеются и в литературе. Rahn и Barnes [10], подвергая дрожжи различного рода неблагоприятным воздействиям, нашли, что во всех случаях потеря способности к размножению наступала значительно быстрее, чем потеря бродильной способности. Rahn, Hegarthy и Deuel [11] на основании своих опытов также указывают, что и молочнокислые стрептококки в промытых суспензиях могут терять способность прорастать при посеве их на свежие питательные среды, оставаясь активными в отношении кислотообразования. То же самое наблюдается и в отношении кишечной палочки (Jordan и Jacobes [8]). Описанное явление особенно было заметно в наших опытах в суспензиях из 40- и 64-часовой основной культуры (табл. 1).

Таблица 1

Опыты с покоящейся культурой на среде без питательных веществ

Продолжительность опыта в часах	Количество кислоты в 1 см³ в мг	Общее количество клеток в 1 см³ 10^6	Количество живых клеток в 1 см³ до опыта 10^6	Количество живых клеток в 1 см³ после опыта 10^6
Суспензия из 16-часовой основной культуры				
3	0,79	1 125	500	—
3	0,82	960	900	—
4	1,6	1 650	600	200
4	1,5	1 760	500	200
4	0,74	810	600	400
4	0,62	915	500	400
Суспензия из 40-часовой основной культуры				
4	0,72	1 260	1 350	500
4	0,62	1 740	1 350	100
2	0,17	1 800	400	—
2	0,1	1 830	400	—
Суспензия из 64-часовой основной культуры				
4	0,27	1 680 до опыта, 810 после опыта	20	0,2
4	0,39	3 330 до опыта, 1 530 после опыта	200	4

Неодновременная потеря указанных функций затрудняет вычисление бродильной активности одной клетки. Исходя из этих соображений, необходимо было изменить условия опытов, чтобы повысить жизнеспособность клеток.

По литературным данным известны различные способы восстановления активности энзимов. Gale и Stephenson [5] восстанавливали энзиматическую активность клеток Bact. coli и Cl. welchii прибавлением к буферному раствору убитых нагреванием клеток Bact. coli. Davies и Stephenson [4] повысили активность суспензий клеток Cl. acetobutylicum путем добавления всех необходимых для роста ингредиентов.

Rahn, Hegarthy и Deuel [11] прибавляли для этой цели в суспензии пептоны и т. д. Размножение бактерий предотвращалось большой численностью клеток в суспензии.

Используя эти методические указания, мы в своих опытах в фосфатный раствор добавляли вытяжку из 6% солодовых ростков и 3% дрожжевого автолизата в качестве источника азотистых и других питательных компонентов. В табл. 2 представлены данные одного из опытов на такой среде. Подсчеты числа клеток и определение кислотности в этих опытах производились каждые 2 часа. Как видно из табл. 2, прибавлением питательных веществ удалось предотвратить уменьшение числа клеток в молодой суспензии в течение 4 часов, но дальше все же оно наблюдалось (табл. 2).

Таблица 2

Опыты с покоящейся культурой на среде с питательными веществами

Продолжительность опыта в часах	Количество кислоты в 1 см³ в мг	Прирост кислотности через каждые 2 часа в мг	Скорость кислотообразования мг/ч	Общее количество клеток в 1 см³ 10^6	Количество живых клеток в 1 см³ 10^6
Суспензия из 16-часовой основной культуры					
0	—	—	—	750	700
2	1,38	1,38	0,69	660	500
4	2,21	0,83	0,46	750	600
6	2,73	0,52	0,25	770	200
Суспензия из 40-часовой основной культуры					
0	—	—	—	1 350	600
2	0,9	0,9	0,45	1 305	600
4	1,96	1,06	0,53	1 300	70
6	2,44	0,48	0,25	1 300	0,3

Активность клеток, если судить по нарастанию кислотности, была наибольшей в первые часы опытов, а затем она падала.

В суспензиях из старой культуры число клеток не уменьшалось за первые два часа, но уже в следующие два часа оно значительно уменьшилось и наблюдалось несоответствие между нарастанием кислотности и числом живых клеток. Повидимому, здесь имело место явление, упомянутое выше, т. е. клетки теряли способность прорастать на свежих средах, не утрачивая еще своей бродильной активности.

Исходя из этого, для вычисления работы одной клетки за 1 час брались числа, полученные только за первые часы опытов, т. е. до большого падения числа клеток.

В табл. 3 представлены средние числовые значения работы одной клетки в условиях неразмножающейся культуры с добавлением питатель-

Таблица 3

Работа одной клетки за 1 час/мг в покоящейся культуре

№ опыта	16-часовая основная культура	40-часовая основная культура
	Без питательных веществ	
1	$5{,}2 \cdot 10^{-10}$	$2{,}8 \cdot 10^{-19}$
2	$3{,}0 \cdot 10^{-10}$	$1{,}2 \cdot 10^{-10}$
3	$10{,}0 \cdot 10^{-10}$	$2{,}1 \cdot 10^{-10}$
4	$10{,}0 \cdot 10^{-10}$	$1{,}9 \cdot 10^{-10}$
5	$3{,}7 \cdot 10^{-10}$	$2{,}1 \cdot 10^{-10}$
6	$3{,}4 \cdot 10^{-10}$	
	Средн. арифм. $5{,}8 \cdot 10^{-10} \pm 2{,}7$	Средн. арифм. $2 \cdot 10^{-10} \pm 0{,}4$
	С добавлением питательных веществ	
1	$20{,}0 \cdot 10^{-10}$	$15{,}0 \cdot 10^{-10}$
2	$12{,}3 \cdot 10^{-10}$	$7{,}5 \cdot 10^{-10}$
3	$11{,}5 \cdot 10^{-10}$	$7{,}5 \cdot 10^{-10}$
4	$10{,}0 \cdot 10^{-10}$	—
	Средн. арифм. $13{,}4 \cdot 10^{-10} \pm 3{,}1$	Средн. арифм. $10 \cdot 10^{-10} \pm 3{,}3$
	Размножающаяся культура	
	От $149 \cdot 10^{-10}$ до $10 \cdot 10^{-10}$	От $43 \cdot 10^{-10}$ до $23 \cdot 10^{-10}$

ных веществ и без них. Из данных, представленных в табл. 3, можно видеть, что молодые клетки активнее старых. Прибавление азота увеличивает активность как молодых, так и старых клеток, но молодые клетки все же несколько активнее старых и в присутствии питательных веществ.

Чтобы данные опытов с промытыми бактериальными суспензиями сопоставить с данными, полученными на развивающейся культуре Bact. Delbrückii, были поставлены дополнительные опыты с более разбавленными суспензиями (разбавлением суспензии создавалась возможность для размножения клеток). Из табл. 4 видно, что молодые клетки очень активны в течение первых часов. Работа одной клетки за один час за этот период времени равняется $149 \cdot 10^{-10}$. Затем вследствие большой кислотности бактерии перестают размножаться. Число клеток начинает уменьшаться. С этого момента культура по своей продуктивности становится равной покоящейся культуре (см. выше табл. 3). Из этой же табл. 4 видно, что бактерии из 40-часовой основной культуры в отличие от 16-часовой культуры имеют длинный лаг-период. Работа клетки в период быстрого размножения была также несколько ниже работы молодой клетки.

Наши данные согласуются с данными Rahn [9]. В опытах с молочнокислыми бактериями Bact. lactis acidi автор указывает, что работа 1 клетки из молодой культуры больше, чем из старой, даже при нейтрализации кислоты. Числовые значения работы 1 клетки за 1 час варьируют в его опытах от $32{,}5 \cdot 10^{-10}$ мг до $7{,}4 \cdot 10^{-10}$ мг.

Таблица 4

Опыты с размножающимися суспензиями

Продолжительность опытов в часах	Общее количество кислоты в 1 см³ в мг	Количество кислоты за каждые 3 часа в мг	Скорость кислотообразования в мг/ч	Общее колич. клеток в 1см³ 10^6	Колич живых клеток в 1 см³ 10^6	Работа одной клетки в час/мг 10^{-10}
Суспензия из 16-часовой основной культуры						
0	—	—	—	94	20	—
3	1,57	1,57	0,52	129	50	149
6	2,26	0,69	0,23	285	90	32
16	3,71	1,45	0,09	274	—	—
Суспензия из 40-часовой основной культуры						
0	—	—	—	29	7	—
3	—	—	—	29	—	—
6	—	—	—	36	—	—
8	0,9	0,9	0,12	105	50	43
10	1,68	0,69	0,34	960	150	34
21	2,54	0,86	0,07	1 200	—	—

В заключение выражаю благодарность Н. Д. Иерусалимскому за руководство работой.

Выводы

Была исследована бродильная активность клеток Bact. Delbrückii с помощью отмытых суспензий, приготовленных из культуры разного возраста. Активность измерялась по количеству кислоты, образуемой из сахара. Полученные данные показали, что средняя биохимическая работа клетки из молодой культуры больше работы клетки из старой культуры.

Добавление питательных веществ в густую, неразмножающуюся суспензию повышает работу как молодой, так и старой клетки. Последнее объясняется, вероятно, наличием ассимилятивных процессов без видимого размножения.

В размножающейся суспензии продуктивность клеток сначала бывает выше, чем в покоящейся культуре. Затем, по мере замедления роста культуры, активность клетки начинает понижаться до уровня неразмножающейся суспензии. Повидимому, интенсивность метаболизма тесно связана с темпом роста и размножения клетки.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 5. 1. 1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Иерусалимский Н. Д. и Канунникова З. А. Изменчивость биохимической активности B. Delbrückii в зависимости от условий культивирования. Сб. рефератов АН СССР 1941—1944 гг.
2. Канунникова З. А. Зависимость биохимической активности молочнокислых бактерий B. Delbrückii от возраста культуры. Микробиология, т. XIV, вып. 5, 1945.
3. Королев С. А. Основы технической микробиологии молочного дела. М.— Л. 1932.

4. Davies R. and Stephenson M. Studies in the acetonbutyl alcohol fermentation. I. Nutritional and other factors involved in the preparation of active suspensions of Cl. acetobutylicum (Weizmann). Biochem. J., v. 35, p. 1920, 1941.
5. Gale E. and Stephenson M. Factors influencing bacterial deamination. II. Factors influencing the activity of dl-serine deaminase in Bact. coli. Biochem., J., v. 32, p. 392, 1938.
6. Gale E. and Heyningen W. The effect of the pH and the presence of glucose during growth on the production of α-and θ-toxins and hyaluronidase by Cl. welchii. Biochem. J., v. 36, p. 624, 1942.
7. Gale E. Factors influencing the enzymic activities of bacteria. Bact. Rev., v. 7, No. 3, p. 139, 1943.
8. Jordan R. and Jacobes S. The growth of bacteria with a constant food supply. I. Preliminary observations on Bacterium coli. J. Bact., v. 48, p. 579, 1944.
9. Rahn O. Die Stundengärleistung der Einzelzelle von Bact. lactis acidi. Ctbl. Bakt., II. Abt., Bd. 32, S. 375, 1912.
10. Rahn O. and Barnes M. An experimental comparison of different criteria of death in yeast. J. Gen. Physiol., v. 16, p. 579, 1933.
11. Rahn O., Hegarthy C. and Deuel R. Factors influencing the rate of fermentation of Str. lactis. J. Bact., v. 35, p. 547, 1938.
12. Wooldridge W., Knox R. and Glass V. Variability in the activity of bacterial enzymes. I. The effect of the age of the culture. Biochem. J., v. 30, p. 926, 1936.
13. Wooldridge W. and Glass V. II. Factors associated with variability and growth. Biochem. J., v. 31, p. 526, 1937.
14. Yudkin J. Hydrogenases of Bact. coli. I. Biochem. J., v. 27, p. 1849, 1933.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ МИКОФЛОРЫ ПОЧВ

Т. В. Халабуда

Микофлора почвы уже давно привлекала внимание исследователей. Еще в 1881 г. Костычев [2, 3], исследуя почвы юга России, высказал предположение, что грибы наряду с бактериями участвуют в образовании темноокрашенных продуктов разложения. С этого времени многие авторы посвящали свои труды изучению грибных организмов, причем одни интересовались их биологической активностью, другие занимались флористическими исследованиями, третьих интересовало и то и другое.

Первая попытка сравнения микофлоры двух почв, глинистой и песчаной [8], не дала ясных результатов. Было выделено всего 11 видов грибов, в том числе 4 вида дрожжей, причем выделялись одни и те же виды из обеих почв.

Труды ранних исследователей биохимической активности почвенных грибных организмов [8, 14, 16, 20, 21, 23] привели к пониманию самых общих вопросов их жизнедеятельности. Многое из этой интересной области осталось неизученным и до настоящего времени [23].

Что касается распространенности и экологии почвенных грибов, то, несмотря на появившиеся в этой области работы [11, 12, 14, 15, 17, 19, 20], к 1916 г. эти вопросы были еще так скудно освещены, что Waksman в специальной работе [21] поставил вопрос: существует ли вообще настоящая почвенная микофлора или грибные организмы, выделяемые из почвы, попадают в нее случайно из пыли, с растений? Необходимо было выяснить, имеют ли эти грибные организмы в почве определенную, только им присущую роль, участвуя в процессах создания почвенного плодородия, или, попадая в почву случайно, они проводят в ней свой жизненный цикл или часть его индифферентно, являясь непочвенными организмами.

Исследуя восемь почв штата Нью-Джерси (США), автор не смог ответить утвердительно на поставленный вопрос, хотя наиболее часто им выделялись 12 родов, уже упоминавшихся предыдущими авторами: Acrostalagmus, Alternaria, Macrosporium, Verticillium, Penicillium, Cladosporium, Zygorhynchus, Mucor, Aspergillus, Cephalosporium, Fusarium, Rhizopus, Trichoderma. Из этой работы были сделаны выводы, что количество грибов уменьшается в почвенных горизонтах по направлению от поверхности вглубь, что более плодородные почвы богаче грибными организмами. Но, чтобы ответить на основной вышепоставленный вопрос, автор считал необходимым исследовать более богатый материал. В 1917 г. Ваксман исследовал 25 почв Северной Америки и Гавайских островов и пришел к заключению, что микофлора почв зависит от климата, влажности, pH, не являясь всюду одинаковой. Автор вновь нашел наиболее часто встречающимися упомянутые выше роды и пришел к выводу, что их можно признать почвенными. Наибольшее количество грибных организмов Ваксман нашел в почве луговой, одной из 8 исследованных почв в работе 1916 г. [21] и одной из 28 исследованных почв в работе 1917 г. [22].

В одной из своих последних работ [23], носящей характер сводки по вопросам изучения почвенных грибов за 30 лет, Ваксман отмечает: «главная проблема еще осталась — получение ясной картины грибной флоры и определение, на каком протяжении она находится под влиянием качественного состава почвы, так же как и экологических факторов».

Мы не можем не отметить, что Ваксман в своем сводном труде не упоминает наших отечественных работ — Райлло [6], Рихтера и Вернера [7], Курсанова и Шкляр [4], Канивец [1], хотя в них находятся очень интересные сведения.

В работе Райлло дана характеристика микофлоры 3 географических точек — Хибин, окрестностей Ленинграда и Воронежской области — и описание 13 новых видов почвенных грибов.

В работе Рихтера и Вернера мы находим сведения относительно распространенности грибов в ризосфере растений и «просто почве», а также выяснение причин, обусловливающих бо́льшие или меньшие количества грибных организмов в той или иной почве и изменения их на различной глубине в связи с изменением количества гумуса и pH.

Курсанов и Шкляр в своей работе, посвященной изучению микофлоры Батумских и Московских почв, выдвинули положение о том, что степень распространенности видов грибов соответствует их биохимической активности, что один и тот же вид гриба, выделенный из разных почв, неодинаков по своей биохимической активности, если в этих почвах он неодинаково распространен. Этот вопрос с того времени не исследовался. Так же мало изучены вопросы о грибах-структурообразователях. Будучи поставленными советскими исследователями еще в 1939 г. [1, 5], они не разрешены и по настоящее время, так как и сейчас еще не установлено, какие группы и ассоциации грибов и бактерий играют решающую роль в структурообразовании почвы. Имеющиеся работы по данному вопросу еще недостаточны.

Необходимо отметить также, что в литературе, в вопросах, касающихся микофлоры почвы, мы встречаем ряд противоречий. Одни авторы считают, что во всех почвенных горизонтах и во всех почвах мы встречаем одни и те же количества грибов и одни и те же виды (Jones и Murdock [18], Goddard [13]); другие показывают, что в разных почвах находятся различные количества грибов, зависящие от глубины горизонта и содержания органического вещества (Рихтер и Вернер [7], Ваксман [21], времени года (Jensen [17]). Одни авторы считают, что наивысшее количество грибных организмов мы находим в почвах лесных (Janke и Holzer [16], Рихтер и Вернер [7]), но есть также данные, что лесные почвы бедны грибными организмами (Ваксман [21]).

Все эти противоречия в значительной мере зависят от того, что разными авторами не была принята стандартизированная единая методика и брались для исследования несравнимые образцы. В исследованиях почвы необходимо соблюдение одинаковых условий взятия проб, многократная повторность в опытах, а также подбор сравнимых образцов.

Окрестности г. Киева являются интересным объектом для изучения микофлоры почв, так как здесь в одной географической широте имеются различные почвы в основном с одинаковой высшей растительностью и одинаковые почвы или близкие по своей классификации — с разной высшей растительностью; здесь легко взять для исследования вполне сравнимые образцы, например одинаковые почвы с различной растительностью. Выбирая тип почвы, мы подбирали такие образцы, которые позволяли бы проследить влияние какого-нибудь одного фактора — типа почвы, высшей растительности или окультуренности. Для этого было взято четыре лесные почвы — Святошино, Дарница, Пуща-Водица и Голосеево. Первые две почвы хвойных лесов — слабооподзоленные супесчаная и песчаная, Пуща-Водица — глиносупесь — смешанный лес и Голосеево — слабооподзоленная супесчаная почва лиственного леса. Из полевых исследовано шесть: Святошино — окультуренная и неокультуренная среднеоподзоленная супесь, Батыева гора — окультуренная и почва заброшенных оврагов, среднеоподзоленная супесь на лессе, черноземная полевая почва ст. Кожанка и почва заливных лугов поймы Днепра. Образцы были взяты на 3 глубинах: 4—5 см ниже поверхности, в пахотном слое — 20, 25 см и на глубине 0,5 м, в три срока — осенью 1944 г., весной 1945 г. и осенью 1945 г. Принята была методика бактериологических разливок на трех средах — синтетическом агаре Чапека, свекловичном агаре и глюкозопептонном агаре по Ваксману. Образцы брались в четырехкратном повторении, такая же повторность и в опытах.

Результаты наших исследований показали, что количество грибных организмов в различных почвах неодинаково. Из всех 10 исследованных почв в общем самыми богатыми грибами являются почвы лесные, но и они также разнятся по количеству грибов в них. Так, например, слабооподзоленные суглинистые и супесчаные почвы лиственного и смешанного леса Голосеево и Пущи-Водицы богаче грибными организмами, чем почвы черноземные ст. Кожанка и почвы заливных лугов поймы Днепра. Окультуренные почвы также несколько беднее грибами тех же почв неокультуренных (см. табл. 1).

Как видно из таблицы, положение, замеченное Ваксманом еще в 1916 г., а также Рихтером и Вернером в 1932 г., что количество грибных организмов уменьшается по направлению от поверхностных слоев

Таблица 1

Количество грибов в 1 г 10 исследованных почв (в тысячах)

№ п/п	Тип почвы	Глубина в см	Осень 1944 г.	Весна 1945 г.	Осень 1945 г.
1	Пуща-Водица. Смешанный лес с богатым травянистым покровом. Почва слабооподзоленная глинисто-песчаная; pH = 5,5	4—5 20—25 50	350 52 9	493 77 23	570 90 10
2	Голосеево. Лиственный лес с богатым травянистым покровом. Почва слабооподзоленная супесчаная; pH = 5,5—6,0	4—5 20—25 50	310 66 6	433 72 52	450 89 20
3	Святошино. Хвойный лес с бедным травянистым покровом. Почва слабооподзоленная супесчаная; pH = 5,5—6,25	4—5 20—25 50	290 59 10	415 106 63	320 98 50
4	Дарница. Хвойный лес с очень бедным травянистым покровом. Почва слабооподзоленная песчаная; pH=5,2—5,5	4—5 20—25 50	250 111 5	300 78 7	260 67 11
5	Заливные луга поймы Днепра с богатой травянистой растительностью. Почва дерновая глееватая; pH = 7,0	4—5 20—25 50	254 98 5	281 110 1	321 113 2
6	Ст. Кожанка. Поле окультуренное. Почва — чернозем мощный малогумусный; pH = 7,0	4—5 20—25 50	191 69 9	216 77 55	315 111 42
7	Батыева гора. Нетронутые овраги с бедной травянистой растительностью. Почва среднеоподзоленная супесчаная на лессе; pH = 6,0—6,25	4—5 20—25 50	198 61 5	205 78 6	301 98 10
8	Святошино. Полевая неокультуренная почва с бедным травянистым покровом, среднеоподзоленная супесчаная; pH = 6,5—6,6	4—5 20—25 50	195 52 7	201 69 8	286 79 8
9	Святошино. Полевая окультуренная почва из-под культур хлебных злаков, среднеоподзоленная супесчаная; pH = 6,6	4—5 20—25 50	190 22 0,160	190 24 0	266 23 0
10	Батыева гора. Полевая окультуренная почва из-под культур хлебных злаков, среднеоподзоленная супесчаная на лессе; pH = 6,0—6,8	4—5 20—25 50	180 100 0,100	210 15 0,100	250 18 0,150

к более глубоким, вполне подтверждается и нашими данными. Что же касается установления общего количества грибных организмов в почве, то в наших данных они являются наибольшими (табл. 2). Из факторов, наиболее влияющих на количество грибных организмов, мы, кроме уже указанного влияния почвенного горизонта, можем отметить тип почвы, так как во всех случаях взятых разных типов почв при одинаковых или очень близких по составу растительных покровах мы получили разницы в количествах грибов; например в супесчаной почве хвойного леса Святошино, больше грибов, чем в песчаной почве хвойного же леса Дарницы (табл. 1). Так же заметно влияет растительный покров в одноименных по своей классификации двух супесчаных почвах Голосеево и Святошино — грибов больше в первой почве лиственного леса, чем во второй такой же почве хвойного леса. Выделяя фак-

тор окультуренности в почвах полевых, мы видим, что у одинаковых почв (Батыева гора, Святошино), лежащих рядом, количество грибов больше там, где почва не окультурена.

Таблица 2

Количество грибов (в тысячах) в 1 г почвы по определению разных авторов

Автор	Местность	Характер почвы	Количество грибов
Ваксман	Нью-Джерси	Глинистая луговая	925
»	Северная Дакота	Полевая из-под льна	23
Janke и Holzer	Окрестности Вены	Почва лиственного леса	125
Они же	То же	» болотистая	39
Рихтер и Вернер	Нижне-Волжский край	» лесная	283
Они же	То же	Астраханская дельта	2,6
Курсанов и Шкляр	Окрестности Москвы — Останкино	Лес лиственный и хвойный	119
Наши данные	Окрестности Киева — Пуща-Водица	Смешанный лес, почва глинисто-песчаная	570
То же	Голосеево	Лиственный лес, почва среднеоподзоленная супесчаная	450
» »	Батыева гора	Полевая почва среднеоподзоленная супесчаная на лессе	250

На основании проведенных нами исследований указанных 10 почв мы можем заключить, что количество грибов в почве зависит от: а) типа почвы; б) типа высшей растительности; в) глубины почвенного горизонта; г) окультуренности почвы. Реакция (pH) почвы, колеблясь в исследованных нами почвах в пределах от 5,25 до 7,25, не всегда влияла на количество грибов. В некоторых случаях слабощелочные (Пуща-Водица) оказались более богатыми грибами, чем слабокислые (Дарница), хотя в общем почвы кислые богаче грибными организмами (почвы лесные), чем почвы, более щелочные (полевые) (табл. 1).

Видовой состав грибов типичных почв окрестностей Киева

Рассматривая видовой состав микофлоры почв окрестностей Киева, мы должны отметить, что наиболее распространенными в них оказались виды из рода Penicillium Link, составляя в большинстве случаев 50—60% всех остальных видов обнаруженных нами грибов (табл. 3). Следующими по встречаемости в исследованных нами почвах являются роды Fusarium, Trichoderma, Mucor. Последний хотя и доходит в некоторых почвах до 24%, но в некоторых падает до 0%. Мы не можем поэтому согласиться с мнением Campbell [10] о том, что виды Mucor вездесущи. На примере наших почв ясно видна зависимость распространенности видов Mucor от содержания органического вещества. Так, лесные почвы лиственного и смешанного лесов Голосеево и Пущи-Водицы гораздо больше содержат видов Mucor, чем почвы, бедные органическим веществом хвойных лесов Святошино и Дарницы. Также и черноземные полевые почвы ст. Кожанка и почвы заливных лугов поймы Днепра содержат больше видов Mucor, чем бедные органическим веществом супесчаные почвы Святошино и Батыевой горы. Нельзя также согласиться с мнением Waksman, Janke и Holzer [16] о том, что виды Mucor преобладают в почвах окультуренных. По нашим данным, ясно видно, что окультуренность в данном случае не является решающим фактором.

В своей известной работе Райлло [6], приводя данные о больших количествах видов Mucor в северных широтах, высказывала предположение об их исчезновении в южных широтах. Это предположение не

подтверждается, так как из литературы мы знаем, что из южных широт Mucor выделяется в довольно большом количестве, например 40% в почвах Гонио, в Зачорохском крае (Курсанов и Шкляр [4]), а, согласно нашим исследованиям, в почвах, взятых в одной географической широте, мы видим изменение содержания видов Mucor от 0 до 26%, обусловленное различным содержанием органического вещества, влажности. Таким образом, влияние географического фактора на распространенность тех или иных форм грибов не всегда является решающим. Обращает на себя внимание высокое содержание видов Aspergillaceae в песчаных почвах хвойного леса Дарницы и почвах нетронутых оврагов Батыевой горы, преобладание родов Chaetomium, Sordaria и Gymnoascus в лесных почвах, а также преобладание рода Trichoderma в почве, богатой перегноем, с повышенной влажностью, лугов поймы Днепра (см. табл. 3). Виды Fusarium встречались главным образом в почвах полевых.

Таблица 3

Родовой состав микофлоры почв окрестностей Киева в процентах от общего числа видов

Почвы	Mucor	Trichoderma	Penicillium	Aspergillus	Fusarium	Cladosporium	Macrosporium	Alternaria	Chaetomium	Gymnoascus	Sordaria	Остальные	Общее колич. всех видов
Почвы лесные													
Голосеево	21	11	33	7	5	2	0	1	2	—	1	17	33
Пуща-Водица	26	11	37	3	2	1	0	1	2	—	2	15	27
Святошино	10	9	50	3	10	1	1	1	2	2	2	0	32
Дарница	6	5	60	15	5	2	1	2	1	—	—	4	11
Почвы полевые													
Луга поймы р. Днепра	24	20	25	2	10	2	2	1	1	—	1	12	30
Полевая почва ст. Кожанка	20	11	35	3	20	2	2	2	—	—	1	4	32
Почва нетронутых оврагов Батыевой горы	0	5	55	10	10	1	2	1	—	—	—	16	20
Почва окультуренная Батыевой горы. Поле из-под хлебных злаков	1	10	50	3	25	1	2	2	—	—	—	6	23
Святошино, заброшенный невозделанный участок земли	1	10	40	3	20	1	1	1	—	—	—	16	14
Святошино, окультуренная почва	2	10	35	2	25	2	2	2	—	—	—	20	16

Из этих данных мы ясно видим, что распространенность различных родов грибов в разных почвах неодинакова. Распространенность видов одного и того же рода в тех же почвах также неодинакова. Так, например род Trichoderma распространен во всех почвах (табл. 3), а виды этого рода встречаются неравномерно, в то время как Trichoderma lignorum (Tode) Harz выделялся из всех исследованных почв, вид Trichoderma Koningi Oud., являясь далеко не таким распространенным в наших почвах, выделялся не из всех исследованных нами почв. Необходимо поэтому при изучении микофлоры почв доводить определения грибов до вида.

Виды наиболее полно представленного в наших почвах рода Penicillium являются самыми разнообразными, среди них мы встречаем обычные формы, постоянно выделяющиеся из воздуха, и виды, характерные для почв, как, например, Penicillium nigricans Bainier, Pen. restrictum Gilm. and Abbott, Pen. Janczewskii Zal., Pen. Swiecickii Zal. и ряд других. Penicillium nigricans Bainier, Penicillium restrictum Gilm. and Abb. встречались во всех наших почвах, тогда как Pen. pinophillum Hed. выделялся главным образом из почвы хвойного леса Святошино и других хвойных лесов. Из этих же песчаных и супесчаных почв была выделена нами группа новых видов: Penicillum arenicola Chalabuda, Pen. Pidoplitschkanum Chalabuda (табл. 4)[1].

Таблица 4

Распространенность видов грибов из рода Penicillium Link в почвах окрестностей Киева

№ п/п.	Виды грибов	Пуща-Водица, лес	Голосеево, листв. лес	Святошино, хв. лес	Дарница, хв. лес	Заливные луга	Кожанка, поле	Святошино, поле окультурен.	Святошино, поле заброшен.	Батыева гора, поле окультурен.	Батыева гора, заброшен. овраг
1	Penicillium nigricans Bain.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	» restrictum Gil. and Abb.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	» Swiecickii Zal.	+	+	—	—	—	—	—	+	—	+
4	» multicolor Gr. Man. and Porad.	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—
5	Penicillium cremeogriseum Chal.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	» sp. 67	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	» cinereoatrum Chal.	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
8	» simplicissimum Thom.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
9	» expansum Link.	—	+	—	—	+	+	+	+	—	—
10	» viridicatum West.	—	+	—	—	+	+	+	—	+	—
11	» rugulosum Thom.	—	+	—	—	—	+	—	—	—	—
12	» rubrum O. Stoll	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
13	» decumbens Thom.	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
14	» deformans Sopp	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
15	» kapuscinskii Zal.	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
16	» Janczewskii Zal.	+	—	+	—	—	—	—	—	—	+
17	» arenicola Chal.	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—
18	» Janthinellum Biourge	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
19	» canescens Sopp	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
20	» phinophillum Hed.	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
21	» Pidoplitschkanum Chal.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22	» chlorophaeum Biourge	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
23	» expansum Link.	—	+	—	—	+	+	+	+	—	—
24	» citrinum Thom	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	» roseocitreum Biourge	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
26	» albocinerascens Chal.	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
27	» glaucocinerascens Chal.	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
28	» digitatum Sacc.	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
29	» prefferianum Wehm.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30	» lividum West.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
31	» Gilmanii Thom	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
32	» guttulosum Gil. and Abb.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
33	» Rivolii Zal.	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
34	» glaucolanosum Chal.	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
35	» Bilaii Chal.	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
36	» Kurssanovi Chal.	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+

[1] Описание новых видов см. Т. Б. Халабуда, Нові види з роду Penicillium Link. Мікробіологічний журнал, т. IX, вып. 4, 1947.

Виды родов Alternaria, Cladosporium, Macrosporium, Verticillium, известные по ранним исследованиям как обитатели почвы, также встречались почти во всех типах почв (см. табл. 5).

Таблица 5

Распространенность различных видов грибов в почвах окрестностей Киева

№ п/п.	Виды грибов	Пуща-Водица, смеш. лес	Голосеево, листв. лес	Святошино, хв. лес	Дарница, хв. лес	Заливные луга поймы Днепра	Ст. Кожанка, поле	Святошино, окультурен. поле	Святошино, заброшен. поле	Батыева гора, окультурен. поле	Батыева гора, заброшен. овраги
1	Mucor plumbeus Bon.	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—
2	» racemosus Fres.	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—
3	» hiemalis Wehm.	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—
4	» silvaticus Hag.	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—
5	» sp. 12	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
6	» sp. 15	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
7	Rhisopus nigricans Ehr.	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—
8	Zygorhynchus Vuil.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
9	Cunninghamella elegans Lendn.	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
10	Torulopsis sp.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
11	Wilia anomala Hans	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
12	Aspergillus niger v. Tieg.	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—
13	» oryzae Abl.	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
14	» glaucus Link	+	—	+	+	—	—	—	+	—	—
15	Trichoderma lignorum (Tode) Harz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	» Koningi Oud.	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—
17	Verticillium lateritium Berk.	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—
18	Gliocladium varians Pidopl.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	» verticilloides Pidopl.	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—
20	Cladosporium herbarum Pers.	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+
21	Alternaria tenuis Nees.	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+
22	Stemphylium polymorphum Bonor.	+	—	—	—	+	+	—	+	+	+
23	Stysanus stemonitis Corda	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+
24	Trichothecium roseum Link.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	Macrosporium commune Rabenh.	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—
26	Helminthosporium avenae Eid.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—
27	Stemphylium sp.	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
28	Alternaria sp.	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
29	Fusarium nivale (Fr. C.)	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—
30	» orthoceras (App. et. W.)	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
31	» » v. longius (Cher. Wr.)	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
32	» Martii App. et. Wr.	—	—	—	—	—	+	+	—	+	+
33	» eumartii Carpenter	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
34	» solani (Martii) App. et. Wr.	—	—	+	—	—	+	+	—	+	—
35	Fusarium merismoides Cda	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—
36	» conglutinans (Lib. Sacc.)	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—
37	» coeruleum Sacc.	—	—	—	—	+	+	+	—	+	—
38	Sordaria fimicola Ces et de Notaris	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
39	Chaetomium globosum Kunze	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Не только в различных почвах, но и в разных горизонтах тех же почв роды и виды грибов различны. Так, род Trichoderma (все виды) выделялся главным образом из верхних горизонтов почвы, так же как и все виды Mucor. К таким родам принадлежат и Sordaria, Gymnoascus, Chaetomium и др. Виды рода Fusarium встречались во всех горизонтах так же, как и Aspergillus, но среди видов Penicillium нам удалось установить, что одни распространены в верхних горизонтах, например Penicillium nigricans Bainier, Pen. restrictum Gilman and Abbott, Pen. pinophillum Hed., Pen. albocinerascens Chalabuda, другие

Таблица 6

Виды Penicillium, расположенные по их встречаемости на разных глубинах почв окрестностей Киева

№ п/п.	Поверхностный горизонт (4—5 см ниже поверхности почвы)	Пахотный горизонт	0,5 м
1	Penicillium nigricans Bainier	Penicillium pfefferianum Wehmer	Penicillium multicolor Grig.-Man. and Por.
2	Pen. restrictum Gill. and Abb.	Pen. citrinum Thom.	Pen. roseopurpureum Dir.
3	Pen. chlorophaeum Biour.	» decumbens Thom.	Pen. chlorophaeum Biourge
4	Pen. expansum Link.	» deformans Thom.	Pen. Gilmanii Thom.
5	» pinophillum Hed.	» digitatum Sacc.	» Rivolii Zal.
6	» glaucocinerascens Chal.	» roseocitreum Biourge	» expansum Link
7	Pen. albocinerascens Chal.	Pen. Swiecickii Zal.	» Bilaii Chal.
8	» biforme Thom.	» kapuscinskii Zal.	» glaucolanosum Chal.
9	» citrinum »	» Janthinellum Biour.	» cremeogriseum Chal.
10	» sp. 109/29	» simplicissimus Thom	» Pidoplitschkanum Chal.
11		Pen. canescens Sopp.	Pen. Paecilomyces sp.
12		» albidum Sopp.	
13		» guttulosum Gil. and Abb.	
14		Pen. viridicatum West.	
15		» Chlorophaeum Biour.	
16		» expansum Link.	
17		» rugulosum Thom.	
18		» rubrum O. Stoll	
19		» sp. 142	
20		» sp. 117/12	
21		» sp. 149/4	
22		» cinereoatrum Chal.	
23		Pen. sp. 149/2	
24		» arenicola Chal.	
25		» Paecilomyces sp.	

же мы встречаем на глубине 0,5 м, например, Pen. multicolor Grig. Man. and Porad., Pen. roseopurpureum Dir., Pen. Gilmanii Thom., Pen. Pidoplitschkanum Chalabuda, но есть и такие виды Penicillium, которые можно встретить во всех трех исследованных горизонтах — поверхностном, пахотном и на глубине 0,5 м, например Penicillium expansum Link., Pen. chlorophaeum Biourge (табл. 6 и 7). Вообще же большинство грибов распространено в верхнем горизонте (4,5 см. ниже поверхности), хотя среди рассмотренных нами родов исключение составляет род Penicillum Link., который в пахотном горизонте более распространен, чем в поверхностном (см. табл. 6 и 7).

Мы видим таким образом, что даже самые распространенные роды встречаются далеко не везде, они едва ли универсальны, а приспособлены к той или иной среде. Мы далеки от того, чтобы на основании нашей одной только работы делать общие выводы, дальнейшие широкие и углубленные исследования смогут выяснить то многое неясное из жизни этих далеко не безразличных в жизни природы агентов.

В заключение приводим данные о биохимической активности выделенных нами в чистые культуры грибов — способности разлагать клетчатку, разжижать желатину и свертывать молоко. Обращает на себя внимание высокая активность в разложении клетчатки всех распространенных в почве грибов, меньшая активность в разжижении жела-

Таблица 7

Виды грибов, расположенные по их встречаемости на разных глубинах почв окрестностей Киева

№ п/п.	Поверхностный горизонт (4—5 см ниже поверхности почвы)	Пахотный горизонт	0,5 м
1	Mucor plumbeus Bon.	Zygorhynchus Vuillem. Nam.	Aspergillus glaucus L.
2	» racemosus Fres.	Cuninghamella elegans Lendn.	Asp. oryzae Ahl.
3	» silvaticus Hag.	Trichoderma lignorum (Tode) Harz.	Cladosporium sp.
4	» hiemalis Whem.	Trichoderma Koningi Oud.	Fusarium merismoides Cda
5	» sp. 12	Verticillium lateritium Berk	Fusarium orthoceras App. et Wr.
6	» sp. 115	Cladosporium herbarum Pers.	
7	Rhisopus nigricans Ehr.	Helminthosporium avenae Eid.	
8	Mortierella candelabrum v. Tieg.	Alternaria tenuis Nees.	
9	Zygorhynchus Vuillemini Nam.	Macrosporium commune Rabenh.	
10	Torulopsis sp.	Stemphylium polymorphum Bon.	
11	Willia anomala	Stysanus stemonitis Corda	
12	Gymnoascus Baranetz.	Gymnoascus Baranetz.	
13	Melanospora sp.	Aspergillus glaucus L.	
14	Chaetomium globosum K.	Asp. niger v. Tieg.	
15	Trichoderma lignorum (Tode) Harz.	Fusarium nivale (Fr. C.)	
16	Trichoderma koningi Oud.	» conglutinans (Lib. Sacc.)	
17	Verticillium lateritium Berk.	Fusarium orthoceras App. et Wr.	
18	Glocladium verticillioides Pidopl.	Fusarium Martii App. et Wr.	
19	Trichothecium roseum Link.	» eumartii Carpenter	
20	Helminthosporium avenae Eid.	» coeruleum Sacc.	
21	Stemphylium polymorphum Bon.	» solani (Marti) App. et Wr.	
22	Alternaria tenuis Nees.		
23	Macrosporium commune Rabenh.		
24	Fusarium nivale (Fr. C.)		
25	» orthoceras App. et Wr.		
26	Fusarium Martii App. et Wr.		
27	» coeruleum Sacc.		
28	» solani (Martii) App. et Wr.		
29	Aspergillus niger v. Tieg.		

Таблица 8

Разложение клетчатки, разжижение желатины, свертывание молока видами грибов из рода Penicillium Link., выделенных из почв окрестностей Киева

№ п/п.	Вид гриба	Клетчатка	Желатина	Молоко
1	Penicillium nigricans Bainier	++++	+++	—
2	» restrictum Gil. and Abb.	++++	+++	—
3	» pfefferianum Wehm.	+++	—	—
4	» lividum Westl.	++++	—	—
5	» citrinum Thom.	++	+++	+
6	» multicolor Grig. Man. and Porad.	++	—	—
7	» roseopurpureum Dir.	—	+	—
8	» glaucolanosum Chalabuda	+	+	—
9	» decumbens Thom.	++++	+	+
10	» deformans Sopp	++	+—	—
11	» glaucocinerascens Chal.	++	++	—
12	» albocinerascens Chal.	++++	+	—
13	» Bilaii Chal.	++++	+	—
14	» cremeogriseum Chal.	++	—	—
15	» Kurssanovii Chal.	++++	—	—
16	» sp. 67	+	+	—
17	» cinereoatrum Chal.	+++	+	—
18	» sp. 149/4	++	+	—
19	» sp. 149/2	+++	+	—
20	» sp. 117/12	++++	+	—
21	» digitatum Sacc.	+	—	—
22	» chlorophaeum Biourge	+	++	—
23	» roseocitreum »	++	+++	—
24	» biforme Thom.	+	++	—
25	» Gilmanii »	++++	++	—
26	» canescens Sopp.	++++	++	—
27	» swiecickii Zal.	++++	++	—
28	» Janczewskii Zal.	++++	+	—
29	» kapuscinskii Zal.	++++	+	—
30	» Janthinellum Biourge	++	++	—
31	» simplicissimus (Oud.) Thom.	+++	+	—
32	» albidum Sopp.	++	+	—
33	» guttulosum Gil. and Abb.	++	+	—
34	» Rivolii Zal.	++	+	—
35	» viridicatum Westl.	++	+++	—
36	» expansum Link. em. Thom.	++	+	—
37	» rugulosum Thom.	++++	+	—
38	» rubrum O. Stoll	++++	+	—
39	» pinophillum Hed.	++++	++	—
40	» sp. 142	++++	+	—
41	» Pidoplitschkanum Chal.	++	+	—
42	» Pidoplitschkanum Chal. s. 121/3	+++	+	—
43	Paecilomyces	+++	+	—

Примечание. ++++ полное разложение клетчатки или полное разжижение желатины; +++ соответственно 0,75, ++ 0,50, + 0,25 разложения стандартной полоски фильтровальной бумаги или разжижения стандартного столбика желатины; — отсутствие разложения или разжижения.

Для молока: + образование плотного нормального сгустка; — отсутствие свертывания молока.

Таблица 9

Разложение клетчатки, разжижение желатины, свертывание молока видами грибов, выделенных из почв окрестностей Киева

№ п/п.	Вид гриба	Клетчатка	Желатина	Молоко
1	Mucor plumbeus Bonord	—	+	—
2	» racemosus Fres.	—	+	—
3	» silvaticus Hagem	—	++	—
4	» sp. 12	—	+	—
5	» sp. 115	—	+	—
6	» hiemalis Wehm.	—	++	—
7	Rhizopus nigricans Ehr.	—	+	—
8	Zygorhynchus Vuil. Nam.	—	+	—
9	Mortierelle candelabrum v. Tieg.	++	+++	+
10	Cunninghamella elegans Lendner	++	+++	—
11	Aspergillus niger v. Tieg.	+++	+++	+
12	» oryzae Ahlb.	+	++	+
13	» glaucum Link	+	+++	+
14	Chaetomium globosum Kunze	++++	—	—
15	Trichoderma lignorum (Tode) Harz	+++	+++	+
16	» Koningi Oud.	+++	+++	+
17	» st. I	++	+++	+
18	» st. II	++	+	—
19	» st. III	+++	+	+
20	Gliocladium verticilloides Pidopl.	++	+++	+
21	Verticillium lateritium Berk.	+	++	—
22	» sp.	++++	++++	—
23	Trichothecium roseum Link	+	++	—
24	Dicoccum asperum Corda	++	+	—
25	» sp.	++++	+	—
26	Cladosporium herbarum Pers.	++++	+	—
27	Helminthosporium avenae Eid.	++++	+++	—
28	Stemphylium polymorphum Bon.	++++	+++	—
29	Macrosporium commune Rabenh.	++++	+++	—
30	Alternaria tenuis Nees.	++	++	—
31	Stysanus stemonitis Corda	++++	++	+
32	Fusarium merismoides Cda	++	+++	—
33	» conglutinans Wr.	+	+	—
34	» orthoceras Wr.	++	+	—
35	» Martiis App. et Wr.	+	++	—
36	» eumartii Carpenter	++	+	—
37	» orthoceras v. longius	++	++	—

тины и почти полное отсутствие способности свертывать молоко. По нашим данным, биохимическая активность грибных организмов по отношению к разложению клетчатки у всех наиболее распространенных форм высока. Так, большинство видов Penicillium очень активны в разложении клетчатки, так же как и распространенные в почве Fusarium, Helminthosporium, Macrosporium, Alternaria, Stysanus, Verticillium и пр., но виды Mucor, исследованные нами, достаточно распространенные в почве, совсем не способны разлагать клетчатку (табл. 8 и 9).

Приношу глубокую благодарность Н. М. Пидопличка за советы и помощь, оказанные мне при выполнении этой работы.

Выводы

1. При исследовании микофлоры 10 типичных почв окрестностей Киева мы нашли, что количества грибных организмов, а также родовой и видовой состав их в различных почвах не одинаковы и зависят от: а) типа почвы, б) высшей растительности, в) почвенного горизонта, г) степени окультуренности.

2. Наиболее распространенным родом в наших почвах является Penicillium Link. Виды его составляют 50—60% всех остальных выделенных нами видов грибов. Следующими по распространенности родами являются Mucor, Fusarium, Trichoderma, Cladosporium.

3. Способность к разложению клетчатки у грибов, широко распространенных в почве, высока в противоположность слабой способности разжижать желатину и отсутствию в большинстве случаев способности свертывать молоко.

Институт микробиологии
им. Заболотного
Академии Наук УССР
Киев

Получено 31. I. 1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Канивец И. И. Роль гриба Trichoderma lignorum (Tode) Harz. и корневых систем сахарной свеклы, озимой пшеницы, овса, люпина и клевера в создании почв с прочной структурой. Сб. Всесоюзного научно-иссл. ин-та сахарной пром. 1939.
2. Костычев П. А. Почвы черноземной области России, их происхождение, состав и свойства. 1881. СПБ.
3. Костычев П. А. Почвы черноземной области России, их происхождение, состав и свойства, ч. 1, 1886, СПБ.
4. Курсанов Л. И. и Шкляр Т. Сравнительное изучение микофлоры Московских и Батумских почв. Бюлл. Московского общества испытателей природы, Отд. биологии, т. X, VII, 1938.
5. Мишустин Е. Н. Роль микробиологического фактора в образовании почвенной структуры. Микробиология, т. X, вып. 3, 1941.
6. Райлло А. И. Материалы по изучению почвенных грибов. Бюлл. Отдела земледелия Гос. ин-та опытной агрономии, № 6, 1928.
7. Рихтер А. А. и Вернер А. Опыт учета флоры грибов в почвах Нижне-Волжского края. Журн. опытной агрономии юго-востока России, т. IX, 1931.
8. Adametz L. Untersuchungen über die niederen Pilze der Ackerkrume. Inaug. Diss. Leipzig, 1896.
9. Brown P. E. and Halversen W. V., Effect of seasonal conditions and soil treatment on bacteria and mold in soil. Iowa Agric. Exp. St. Res. Bull., 1921.
10. Campbell (Mary E.). An Investigation of the Mucorales in the soil. Trans. Roy. Soc. Edinb. LIX, 2, p. 411, 1938.
11. Dale E. On the fungi of the soil. Ann. Mycol., v. 10, p. 452, 1912.
12. Dale E. On the fungi of the soil. Ann. Mycol., v. 12, p. 33, 1914.
13. Goddard H. M. Can fungi living in agricultural soil assimilate free nitrogen? Bot. Gazette, v. 56, 1913.
14. Hagem O. Untersuchungen über die Norwegischen Mucorineen. I. Widensk Selsk. I Math. Naturwiss. Klasse, Bd. 7, S. 1, 1907.
15. Hagem O. Untersuchungen über Norwegische Mucorineen. II. Widensk. Selsk. I Math. Naturwiss. Klasse, Bd. 10, S. 265, 1910.
16. Janke A. und Holzer H. Über die Schimmelpilzflora des Erdboden. Ctbl. Bakt. Abt. II, Bd. 79, 1930.
17. Jensen C. N. Fungus flora of the soil N. J. (Cornell). Agr. Exp. Sta. Bull., 315, 1912.
18. Jones D. H. and Murdock F. G. Quantitative and qualitative bacterial analysis of soil samples taken in fall 1918. Soil Sci., 8, 1919.
19. Lendner A. Les mucorinees de la Suisse, p. 180, 1908.
20. Oudemans A. C. nud Koning C. J. Prodrome d'une flore mycologique obtenue par la culture sur gelatine préparée de la près de Russum. Arch. Neer. and Sc. Exact et Nat., t. 7, Série 2, p. 266, 1902.
21. Waksman S. A. Soil fungi and their activities. Soil Sci., v. 2, No. 2, 1916.
22. Waksman S. A. Is there any fungus flora of the soil? Soil Sci., v. 3, No. 6, 1917.
23. Waksman S. A. Three decades with soil fungi. Soil Sci., v. 58, No. 2, 1944.

НОРМАЛЬНАЯ АЦИДОФИЛЬНАЯ ФЛОРА КИШЕЧНИКА, СБРАЖИВАЮЩАЯ КРАХМАЛ

О. К. Палладина, Т. А. Кротова, В. А. Мазюкевич и *А. А. Аношкина*

Микрофлора кишечника изучалась огромным количеством исследователей, но до настоящего времени нет ясных представлений о том: 1) какими свойствами должна обладать нормальная кишечная флора, 2) какие именно бактерии составляют нормальную флору кишечника.

К сожалению, среди врачей очень распространено мнение, отрицающее физиологическую роль кишечной микрофлоры, и ряд авторов, например, Медовиков [9], утверждает, что бактерии кишечника вообще не нужны организму.

Со времен Мечникова [17] установлено физиологическое значение кислотообразующей кишечной флоры. Ряд работ физиологов отмечает значение органических кислот в кишечнике, как фактора, способствующего усилению перистальтики и улучшающего кальциевый обмен благодаря переводу нерастворимых соединений кальция в растворимые соли органических кислот.

Сводка работ о терапевтическом значении молочной кислоты в кишечнике: подавление патогенных бактерий и гнилостных процессов, уменьшение индикана в моче, многочисленные клинические наблюдения над прекращением ряда желудочно-кишечных и накожных заболеваний имеется у Войткевича [3], Калинина [5], Копелова [15] и Семикова [13]. Последний указывает, что «при продвижении химуса по пищеварительному тракту получается повышение pH благодаря щелочному действию стенки тонких кишок (pH = 9,0) и панкреатического сока (pH = 8,5). В результате в разных отрезках здорового кишечника разное pH, благодаря которому в каждом отрезке своя микрофлора. В толстых кишках часто гнилостные процессы и щелочная реакция; кислота, вводимая с пищей, не достигает цели, так как нейтрализуется, не доходя до нижних отрезков кишечника». Снижение pH в нижних отрезках кишечника до нормы, примерно 6,0—5,5 у взрослых и 4,8—6,0 у здоровых грудных детей, возможно исключительно за счет кислотообразующей микрофлоры.

Эти положения являются совершенно бесспорными и общепринятыми, но до настоящего времени обычно ферментативно-активными бактериями в кишечнике считают исключительно «истинных — типичных» молочнокислых бактерий. Внимание к монокультурам молочнокислых палочек приковано также, начиная с работ Мечникова, считавшего Болгарскую палочку основным кислотообразующим агентом в кишечнике.

Позднейшие работы Rettger [20—21], Копелова [15], а в СССР Калинина [5] признают за основного возбудителя кислотообразования в кишечнике ацидофильную палочку Lactob. acidophilus, обладающую способностью приживаться в кишечнике, оказывая терапевтическое действие.

Попытки уточнить специфические особенности ацидофильной палочки не дали до настоящего времени критерия для ее разграничения от других лактобацилл. Как Калинин [5] в 1940 г., так и Садокова [12] не выделяют Lactob. acidophilus из общей характеристики «типичных» молочнокислых» палочек и считают только, что приживаются в кишечнике раз-

новидности лактобацилл, сбраживающие мальтозу и стойкие к наличию в среде 0,5% фенола.

Ферментативную активность как типично молочнокислых палочек типа Bact. bulgaricum, так и ацидофильных палочек устанавливают по кислотонакоплению в молоке, в котором активные культуры Thermobakterien (к которым относят всех лактобацилл) накапливают до 4% молочной кислоты [1]. Лактобацилл кишечника всегда считают специфической микрофлорой, требующей для своего развития молока.

В США считается необходимым вводить в питание лактозу и около 2 л в день молока, так как будто бы только при такой диете устанавливается в кишечнике преобладание желательной ацидофильной флоры (Копелов [15], Rettger [20], Barber [14], Войткевич [3]).

Поскольку при полном отсутствии молочного питания наблюдается вполне здоровый кишечник и прекрасное самочувствие, то, естественно, положение о связи между «нормальной» флорой кишечника и обильным молочным питанием должно быть пересмотрено.

Среди врачей распространено убеждение, что нормальным обитателем кишечника является типичная кишечная палочка Bact. coli commune, а всякая другая микрофлора является «посторонней».

По ныне принятой методике высева faeces исключительно на специфические диагностические среды для кишечной группы в основном на среду Эндо, на которой типичные молочнокислые бактерии совершенно не развиваются, выпадая из обследований врачей-гигиенистов и эпидемиологов.

Подкрепляется внимание к типичным кишечным палочкам работами Перетц [11].

Во время первой империалистической войны в Германии Ниссле изучал кишечную флору «лучших», по его выражению, солдат, ни разу не заболевших при желудочно-кишечных эпидемиях, и выделил особую культуру Bact. coli commune, названную им «Mutaflor», способствующую устойчивости организма против возбудителей желудочно-кишечных инфекций. В СССР в этой области работал Перетц, который в своей работе «Coli-антагонизм и coli-терапия» считает оптимальной флорой кишечника особые «антагонистические» разновидности Bact. coli (например, M_{17}), но не дает им никакой характеристики и даже указывает, что антагонистические культуры не отличимы от неантагонистических в биохимическом отношении. Перетц, стремясь выяснить механизм антагонизма, указывает, что он зависит от каких-то еще не выясненных свойств некоторых культур Bact. coli, но отнюдь не основан на их ферментативной активности (подавлении патогенных бактерий вырабатываемой кислотой), так как проявляется в безуглеводных средах. Перетц совершенно не учитывает физиологического значения кислот и низкого pH в кишечнике.

Наша работа по изучению нормальной флоры кишечника была начата в разгар голода и блокады Ленинграда в 1941 г. Первоначальной задачей было установить, чем отличается кишечная флора: а) здоровых (доноров), стойко переносящих условия блокадного питания без каких-либо желудочно-кишечных расстройств; б) лиц, страдающих дистрофией II и III степени, но также без расстройств кишечника, и в) лиц, страдающих дистрофическими поносами.

Впоследствии мы, продолжая изучать микрофлору кишечника взрослых, обследовали и детей в возрасте от одного месяца до двух лет как с исключительно грудным, так и смешанным питанием.

---

[1] Моро писал еще в 1900 г., что его Lactobacillus acidophilus слабо растет в молоке и свертывает его лишь через несколько суток, но при производстве ацидофильных кисломолочных продуктов всегда применяют культуры, активно накапливающие кислотность в молоке.

При блокадном пайке Ленинграда молоко и молочные продукты совершенно отсутствовали, поэтому трудно было предположить наличие в кишечнике блокадных ленинградцев «истинных» молочнокислых бактерий.

С первых же шагов мы натолкнулись на отсутствие типичной Bact. coli в кишечнике блокадных ленинградцев. По нашим данным, «санитарно-показательная» Bact. coli commune была обнаружена лишь у 8% обследованных доноров (230 человек), у 59% встречалась Bact. coli citrovorum, а у 35% вообще не было Bact. coli, т. е. бактерий, дающих на среде Эндо металлические колонии и образующих кислоту и газ из лактозы. Lactobacil. acidophilus мы встречали всего в 16% случаев.

Подробнейшие и весьма интересные данные Игнатович [4] (из бактериологической лаборатории Санитарно-гигиенического ин-та) на массовых анализах подтверждают тот же факт исчезновения Bact. coli из кишечника блокадных ленинградцев.

Получалось, что у ленинградцев в 1941—1943 гг. нормальной кишечной флоры не могло быть, а между тем было много людей, стойко переносивших все испытания блокады при прекрасном пищеварении.

Следует особо подчеркнуть, что в период блокады Ленинграда совсем не отмечалось заболеваний тифозных и паратифозных. Мы изучали микрофлору кишечника бактериоскопически по способу Тсучига (цит. по Коршун [8]), и определяли прямым титрованием ферментативную активность суммарной флоры faeces на разных средах (применяли метод Виноградского характеристики суммарной флоры объекта).

Согласно Тсучига, «ферментативная» флора кишечника содержит до 90% грамположительных молочнокислых палочек, причем ферментативная активность приписывается исключительно истинно молочнокислым палочкам.

Стремясь к накоплению в кишечнике прихотливых к условиям питания лактобацилл, главное внимание обращают на предоставление лактозы без учета условий, при которых лактоза может сбраживаться.

Имеется много работ о желательности давать детям β-лактозу для создания в кишечнике низкого pH.

Полное отсутствие лактозы в рационах блокадного Ленинграда заставило нас обратить внимание на наиболее доступный углевод-крахмал, который (согласно капрологическим исследованиям) неизменно встречается в нижних отрезках кишечника.

Weinstein [23] выяснял влияние диеты на pH кишечника и нахождение в нем ацидофильной флоры у белых крыс. По его данным, при углеводно-крахмальной диете у крыс наблюдается накопление ацидофильной флоры и снижение pH кала. При мясной диете pH кала повышается. По данным того же автора, ацидофильная флора накапливается в кишечнике белых крыс при кормлении их бананами, яблоками и виноградом.

В старых работах Rettger [20] доказано, что наличие в диете лактозы, декстрина или крахмала вызывает накопление бактерий, устойчивых к кислотам, тогда как глюкоза и сахароза не оказывают такого эффекта.

Следует отметить, что разобраться в суммарной флоре кишечника представляло исключительные трудности, которые мы пытались преодолеть следующими путями:

1) подбирали среды для выявления биохимической активности отдельных групп кишечной микрофлоры;

2) микроскопировали (после окраски по Граму) параллельно нативные мазки по Тсучига и микрофлору, вырастающую на всех средах;

3) определяли титрованием кислотность, накапливаемую на различных средах суммарной флорой кишечника;

4) выделяли монокультуры из посевов faeces на различных средах и тщательно изучали их морфологически;

5) изучали на различных источниках углерода и азота биохимизм как отдельных выделенных культур, так и их смесей для воспроизводства биохимизма суммарной флоры кишечника.

Микроскопическое изучение роста на различных средах выявляет как количество развившихся бактерий, так и их относительную величину и соотношение различных морфологических форм. Из микроскопического изучения можно сделать следующие выводы.

Кишечная флора развивается в молоке менее интенсивно, чем на синтетических средах, при этом клетки в молоке часто мельче, чем в синтетической среде с крахмалом [2]. Этой особенностью отличается микрофлора не только взрослых, но и грудных детей.

Молоко, сброженное бактериями кишечника, резко отличается по микроскопической картине от кисломолочной массы, полученной от развития типичных молочнокислых бактерий из молочных продуктов.

При сопоставлении на одной и той же синтетической среде 2 источников углерода — глюкозы и крахмала со всей очевидностью выявлено, что вырастают совершенно различные группы — на глюкозе почти исключительно грамотрицательные, а на крахмальной среде преобладают грамположительные бактерии и переходные от грамотрицательных к грамположительным (длинные цепочки грамотрицательных стрептококков со включением нескольких грамположительных члеников или длинные нити как совсем грамположительных, так и грамотрицательные с грамположительными включениями).

Из всех образцов крахмальной среды (сброженной без выделения газа и накопления летучих кислот) с морфологически крайне разнообразными формами мы выделяли молочнокислых бактерий как типа Lactobacillus acidophilus (M, S и R), так и различные варианты молочнокислых стрептококков. На всех пептонных средах были почти исключительно грамотрицательные коккобактерии и явно преобладали различные представители кишечной группы, близкие к Bact. coli.

Уже морфологическое изучение суммарной кишечной микрофлоры с полной очевидностью установило, что на пептонных средах грамположительные молочнокислые бактерии плохо растут, а на крахмально-синтетической среде с азотом в виде NH_3 прекрасно развиваются. Это утверждение совершенно расходится с общепринятыми взглядами на лактобацилл благодаря тому, что все работы проводятся исключительно с монокультурами стабилизированных S- и R-форм молочнокислых бактерий, а на крахмальной среде растут лактобациллы лишь в смешанной культуре (табл. 1).

Для выявления ферментативной активности флоры faeces мы определяли титруемую кислотность, накапливаемую суммарной флорой на разных средах за счет сбраживания глюкозы, лактозы и крахмала. При этом сбраживание глюкозы учитывалось на двух источниках азота: пептоне и аммонийных солях.

Все обычные исследования кишечной микрофлоры проводятся на пептонных средах, а между тем, по литературным данным, пептоны в нижних отрезках кишечника отсутствуют. Аммиак в разных количествах встречается при любой диете как в свободном, так и связанном состоянии (Lüger [16]).

---

[2] Состав синтетических сред:

K_2HPO_4—0,5%; лимонной кислоты, 0,2%;
$MgSO_4$—0,1%; глюкозы или крахмала 1%;
NaCl — 0,1%;
$(NH_4)_2SO_4$ — 0,5%.

Нейтрализовать аммиаком до pH = 7,0.

Таблица 1

Кислотность, накапливаемая в 10 мл различных сред суммарной флорой кишечника

(Кислотность в миллилитрах 0,1 *N* NaOH; данные по 756 исследованиям)

Объект исследования	Колебание кислотности	Крахмал	Глюкоза		Лактоза	Молоко
		в синтетической среде с NH_3		в пептонном бульоне		
Здоровые взрослые (доноры)	Максим.	10,0	12,0	7,0	7,0	15,0
	Среднее	5,0	8,0	4,0	5,0	10,0
	Миним.	2,5	2,0	2,0	3,0	5,0
Дети до 1 года	Максим.	12,0	14,0	8,0	7,5	23,0
	Среднее	6,0	8,0	5,0	4,0	12,0
	Миним.	3,5	3,0	3,0	2,5	6,0
Больные дистрофией (кишечник нормальный)	Максим.		10,0	5,0	6,0	
	Среднее	—	7,0	3,5	4,0	—
	Миним.		3,0	2,0	2,0	
Больные дистрофией с поносом	Максим.		5,0		4,0	
	Среднее	—	2,0	—	2,0	—
	Миним.		0		0	
Больные язвенным гастритом с запорами	Максим.	5,0	6,0	5,0	6,0	11,0
	Среднее	2,5	2,0	2,5	3,0	6,0
	Миним.*	0	0	0	0	0

* Больше 50% больных гастритом не накапливают кислотности кишечной микрофлорой.

Кроме того, в пептонах имеются продукты распада типа грамицидина, задерживающие рост грамположительных бактерий. Учитывая это, невозможно изучать всех бактерий кишечника, где имеется много молочнокислых бактерий на пептонных средах, принятых для кишечной группы. Кислотность, накапливаемая кишечной микрофлорой на различных средах, представлена в табл. 1.

У всех здоровых людей (как доноров, так и детей) была отчетлива ферментативная флора, образующая до 1,5% кислоты. Даже у лиц с дистрофией II и III степени, но не страдающих поносами, отчетлива ферментативная кишечная флора, а при поносах у больных дистрофией — почти полное отсутствие кислотообразующей флоры. При этом мы, как и ряд других авторов (Калинин [6]), обнаружили при дистрофических поносах гнилостных бактерий и Bact. paracoli. Почти нет ферментативно-активной кишечной флоры у больных язвенным гастритом с запорами. Следует особо подчеркнуть, что максимальная кислотность (до 1,2% кислоты с pH = 3,5—4,0) наблюдалась на средах с аммонийным азотом, а на обычных пептонных средах кислотность значительно ниже [3]. Совпадения между непосредственно определяемой ферментативной активностью кишечной флоры и схемой Тсучига по бактериоскопическому наблюдению не установлено, т. е. максимальное обра-

[3] Следует учитывать, что буферность пептонных сред значительно ниже, чем синтетической с лимоннокислым аммонием, поэтому pH в них часто спускается до одного уровня, но кислоты накапливаются больше на синтетических средах.

зование кислоты микрофлорой отнюдь не совпадает с наличием в этой микрофлоре большого количества грамположительных длинных палочек (подробно описано в нашей работе [10]).

Сопоставляя кислотность отдельных анализов на разных средах, встречаем чрезвычайно большое разнообразие, исключающее возможность сделать общие выводы, но все же четко намечаются некоторые закономерности (табл. 2).

Таблица 2

Сопоставление кислотности, накапливаемой кишечной микрофлорой взрослых и детей на разных средах
(Кислотность в миллилитрах 0,1 *N* NaOH на 10 мл среды)

При кислотности на синтетической среде с глюкозой:					
максимальной (12,0—10)		средней (6,0—5,0)		минимальной (нет роста)	
кислотность в молоке	кислотность в ЛПБ + 10% молока	кислотность в молоке	кислотность в ЛПБ + 10% молока	кислотность в молоке	кислотность в ЛПБ + 10% молока
23,5	3,8	14,0	4,0	15,0	3,8
20,0	4,0	13,0	4,4	13,6	3,0
16,0	3,6	12,4	4,0	12,0	4,0
14,0	3,4	12,0	0,6	12,0	3,0
		9,8	3,6		
12,0	3,3	8,2	3,0	10,0	5,0
12,0	1,6	6,5	9,0	5,0	6,0
11,0	7,0	6,0	5,0	4,8	4,2
		4,3	2,4		
		4,2	1,2		

Кислотность в молоке суммарной флоры большинства здоровых взрослых и детей выше 100° Т, что ясно указывает на типично молочнокислый процесс, так как Bact. coli не накапливают свыше 0,5% кислоты.

Кислотность, образуемая кишечной микрофлорой на лактозо-пептонном бульоне с добавлением 10% молока, бывает вдвое, а часто втрое ниже, чем на цельном молоке.

Вероятно, образование кислотности в молоке как среде, необычной для бактерий кишечника, зависит от наличия каких-то находящихся в минимуме активирующих факторов (Porter [19] указывает, что фолиевая кислота находится в минимуме), а лактоза и белковый комплекс не обеспечивают физиологической активности микрофлоры.

Кислотность, накапливаемая кишечной флорой на крахмально-синтетической среде, не ниже, чем в лактозо-пептонном бульоне с 10% молока.

Следует отметить, что кислотность, образуемая флорой faeces в молоке и крахмально-синтетической среде, резко отлична у отдельных лиц, а на ЛПБ + 10% молока почти всегда одинакова.

Для выяснения влияния разбавленного молока на рост и образование кислотности типично молочнокислыми бактериями мы засевали в 15% и 5% сухое молоко различные лактобациллы; выяснилось, что кислотность в 15% молоке втрое выше, чем в 5%, например в 15%—100° и 150° Т, а в 5% —35° и 40° Т.

В разбавленном молоке кислотность даже весьма активных лактобацилл R снижается вдвое, а иногда в пять раз.

Все вышеприведенные данные дают полное основание утверждать, что в кишечнике, где не может быть 100% молока, нельзя предполагать активного кислотонакопления за счет молока или лактозы, оно будет ниже, чем кислотопродукция из крахмала.

Образование молочной кислоты отдельными культурами из faeces

Мы выясняли также биохимические характеристики отдельных культур, поскольку неизменно все исследователи предлагают те или иные монокультуры в качестве желательной микрофлоры кишечника.

Мы сопоставляли образование кислоты 158 культур разновидностей Bact. coli, а также типично молочнокислых как стрептококков, так и лактобацилл на тех же средах, на которых изучали суммарную микрофлору.

При этом с совершенной очевидностью было установлено более слабое образование кислоты всех без исключения выделяемых монокультур по сравнению с кислотностью суммарной флоры кишечника, из которой производилось выделение.

Первоначально мы изучали влияние друг на друга отдельных молочнокислых бактерий. Этот вопрос интересовал в связи с имеющейся в молочной бактериологии твердой установкой употреблять для диетических кисломолочных продуктов «активные в молоке чистые культуры ацидофильной палочки», которые будто бы должны иметь особое бактериотерапевтическое действие (Верещагина [2], Копелов [5]). Это положение весьма спорно: еще Королев [7] приводит работу Богданова о стимулировании развития Bact. casei при совместном культивировании с молочнокислым стрептококком. В последнее время вопрос активации лактобацилл молочнокислым стрептококком обоснован работами ряда авторов, доказавшими накопление стрептококковыми культурами «фолиевой» кислоты, необходимой для физиологической активности молочнокислым палочкам (Stokes [22], Porter [19]).

Мы изучали влияние на образование кислоты совместного культивирования в молоке различных вариантов молочнокислых стрептококков и Lactobacillus acidophilus M — R (табл. 3).

Из приводимых данных совершенно ясно взаимное активирование кислотопродукции смешанными культурами, даже состоящими из слабоактивных в чистом виде молочнокислых стрептококков и лактобацилл.

В этих опытах мы получали, как правило, максимальную кислотность от добавления нестабилизированных молочнокислых стрептококков к S-формам лактобацилл.

Таблица 3

Влияние совместного культивирования молочнокислых культур на образование кислоты в молоке (в ° Тернера)

Молочнокислые стрептококки	Lactobacillus acidophilus		
	M — S кислотность 60° T	S кислотность 92° T	R кислотность 150° T
Str. lactis культура А . . . 90°	76	126	160
» » Б . . . 60°	94	106	180
» » В . . . 40°	82	112	190
Смешанная форма M — S — R молочнокислых стрептококков культура А . . . 85°	120	216	208
» » Б . . . 58°	132	242	160
» » В . . . 40°	170	304	210

Стабилизированные R-варианты Lactobacillus acidophilus менее активируются, чем гладкие S-варианты. Совершенно определенно можно утверждать, что кислотность смешанной культуры не зависит от активности кислотопродукции отдельных, входящих в симбиоз молочнокислых культур.

Совершенно то же явление наблюдается при развитии культур в крахмально-синтетической среде.

Согласно литературным данным, молочнокислые бактерии не затрагивают крахмала (Бердже [1], Орла-Иенсен [18]).

Правда, в последней работе Орла-Иенсен указывается, что ряд молочнокислых стрептококков (Str. lactis, Str. faecalis) растет на крахмале с дрожжевым автолизатом и накапливает немного кислоты — 2 мл 0,1*N* NaOH на 10 мл, а Bact. casei из датского сыра 5 мл NaOH на 10 мл. Кишечные палочки хорошо развиваются на крахмале, но ферментативная активность их нигде не указывается.

Мы изучали образование кислоты у большого количества кишечных и молочнокислых бактерий на крахмально-синтетических средах, добавляя к ним для активации лимоннокислый аммоний, хлебный отвар и дрожжевой автолизат. Чистые культуры молочнокислых бактерий как стрептококков, так и лактобацилл дают очень низкую кислотность, хотя интенсивно развиваются на крахмале. Кишечные палочки накапливают кислотность до 4 мл 0,1 *N* NaOH на 10 мл среды. Коли-подобные Bacteroides Бердже как грамположительные так и грамотрицательные, составляющие большинство бактерий нормального кишечника в чистой культуре являются слабыми кислотообразователями. При подсеве к ним лактобацилл накапливается максимальная кислотность, достигающая 12 мл 0,1 *N* NaOH на 10 мл крахмально-синтетической среды с 0,5% дрожжей. Кислотность на крахмально-синтетической среде без активаторов низка, но при добавлении к среде дрожжей или хлебного отвара повышается до кислотности, накапливаемой в молоке.

Смешанные культуры — «симбиозы», состоящие из молочнокислых стрептококков и разных вариантов ацидофильных лактобацилл, как S или R, так и обязательно разновидности рода Bacteroides, воспроизводят по образованию кислоты естественную кишечную микрофлору при культивировании на крахмальной среде (табл. 4).

Таблица 4

Влияние добавления химических и биологических активаторов на образование кислоты в крахмальной среде

(Кислотность в миллилитрах 0,1 *N* NaOH на 10 мл среды)

Культура		2% крахмальная среда + 0,5% K_2HPO_4, 0,1% $MgSO_4$, 0,5% $(NH_4)_2SO_4$, следы $FeCl_3$ и KJ			
Основная культура	Добавленный «активатор» *	без добавок	с 0,2% лимоннокислым аммонием	с хлебным отваром	с 0,5% дрожжев. аутолизата
Bact. coli 79/2	—	1,6	2,2	3,2	3,8
» » T 27	—	4,0	4,2	4,2	4,8
» » Mutaflor M_{17}	—	0,8	1,2	2,0	2,0
Str. lactis смесь	—	0	1,0	1,4	2,4
Lact. acidophilus R	—	1,6	1,8	1,2	2,6
Bact. coli Mutaflor M_{17}	Мукоидные формы «М» ацидофилов (по Бердже Bacteroides) M_7	0,6	0,8	1,6	1,6
» » » M_{17}	Мукоидные формы «М» ацидофилов (по Бердже Bacteroides) M_9	2,8	2,0	3,2	6,0
Str. lactis смесь	Мукоидные формы «М» ацидофилов (по Бердже Bacteroides) M_7	2,0	2,2	4,6	7,2
» » »	Мукоидные формы «М» ацидофилов (по Бердже Bacteroides) M_9	3,0	3,4	2,8	8,0
Str. lactis + Lactobac. acidophilus R	Мукоидные формы «М» ацидофилов (по Бердже Bacteroides) M_7	7,4	8,2	7,0	12,4
	Мукоидные формы «М» ацидофилов (по Бердже Bacteroides) M_9	6,4	7,0	8,8	10,0

* «Активатор» — это форма Lactobacillus acidophilus разновидность рода Bacteroides (обозначаемая по Бердже, Bacteroides lactis, близкий к Bacteroides bifidus Tissier, которого Орла-Иенсен отождествляет с Lact. acidophilus).

Изучая возможность активировать образование кислоты кишечной микрофлоры, у которой наблюдается слабая ферментативная активность, мы пытались подсевать различные культуры и установили, что часто подсев молочнокислых палочек создает возможность накопления кислотности на крахмальной среде. При этом совершенно не различались вводимые в смесь лактобациллы S или R-ацидофилы из кишечника или Bact. bulgaricum из молока, чем мы и пытаемся объяснить получение у различных авторов благоприятного эффекта от разных молочнокислых препаратов. Благоприятный эффект от введения лактобацилл зависит от наличия в изучаемой микрофлоре faeces собственных «активаторов» и условий питания. Часто наблюдается отсутствие роста на синтетической среде, даже с добавлением дрожжевого автолизата, суммарной флоры кишечника (например, у многих лиц с колитами, токсической диспепсией), тогда подсев любых лактобацилл не изменяет характеристики такой микрофлоры и только дополнительным подсевом «активаторов» — разновидностей рода Bacteroides — можно добиться повышения образования кислоты.

Выводы

1. При полном отсутствии молочного питания очень часто наблюдается вполне здоровый кишечник и прекрасное самочувствие, поэтому положение о связи между нормальной флорой кишечника и обильным молочным питанием совершенно неубедительно.

2. Массовые наблюдения над кишечной флорой блокадных ленинградцев установили, что типичная кишечная палочка совершенно исчезает при отсутствии белкового питания и никак не может считаться облигатной флорой кишечника.

3. Преобладание в кишечнике молочнокислых или типичнокишечных бактерий зависит в основном от условий питания — на растительно-крахмалистой пище преобладает действительно ацидофильная молочнокислая микрофлора, активно кислотообразующая на различных средах и создающая низкое pH за счет молочнокислого брожения крахмала и продуктов его гидролиза.

4. Микрофлора всякого здорового кишечника обладает четко выраженной ферментативной способностью, накапливая от 0,5 до 1,5% кислоты из крахмала, глюкозы и лактозы, причем интенсивность кислотопродукции зависит главным образом не от углевода среды, а от источника азота и «дополнительных факторов питания».

5. Ныне принятая методика исследований faeces ограничивается выделением монокультур и совершенно не дает общей характеристики биохимических свойств кишечной микрофлоры.

6. Совершенно недопустимо ограничиваться в исследованиях кишечной микрофлоры пептонными средами (Эндо и т. д.), которые являются элективными для грамотрицательных кишечных бактерий и на которых не растут грамположительные молочнокислые бактерии.

7. В молоке суммарная флора здорового кишечника накапливает от 1 до 2% молочной кислоты, но в разведенном молоке или на лактозо-пептонном бульоне с 10% молока только до 0,5%.

Все молочнокислые бактерии плохо растут и не накапливают много кислоты в лактозо-пептонном бульоне и разбавленном молоке, поэтому мало вероятно, чтобы добавление лактозы или молока к смешанному питанию стимулировало рост и кислотопродукцию лактобацилл в кишечнике.

8. На крахмально-синтетической среде микрофлора здорового кишечника накапливает кислоты не меньше, а в большинстве случаев больше, чем в ЛПБ + 10% молока, резко усиливая образование кислоты от добавления к среде хлебного отвара или дрожжевого автолизата.

9. Ни одна монокультура, выделенная из faeces. не воспроизводит биохимической характеристики суммарной микрофлоры.

При совместном культивировании молочнокислые стрептококки резко активируют образование кислоты лактобацилл в молоке. Особенно четко активация наблюдается при введении в смешанную культуру нестабилизированных «диссоциирующих» вариантов молочнокислых стрептококков.

Смешанные культуры молочнокислых бактерий прекрасно растут и накапливают до 1,5% молочной кислоты в крахмально-синтетической среде с 0,5% дрожжей или хлебным отваром, воспроизводя биохимическую характеристику «нормальной» ацидофильной флоры кишечника.

10. Выявление способности «ацидофильной» флоры кишечника накапливать кислотность за счет крахмала заставляет пересмотреть всю проведенную до настоящего времени работу об «ацидофилах» и о значении молока и лактозы для накопления кислотности в нижних отрезках кишечника людей и сельскохозяйственных животных.

Ленинградский институт переливания крови

Получено 30.V1.1947

ЛИТЕРАТУРА

1. Берджe Д. Определитель бактерий 4-е изд., 1936.
2. Верещагина В. И. Ацидофильная паста. Новосибирск, 1946.
3. Войткевич А. Ф. Микробиология молока и молочных продуктов. Москва, 1941.
4. Игнатович З. А. Изменения в типовом составе coli-флоры населения осажденного Ленинграда. Бюлл. № 1—2 Ленингр. научно-иссл. сан.-гиг. ин-та, 1945.
5. Калинин А. М. Ацидофильные микробы, их диссоциация и дифференцировка. Диссертация, Гос. ин-т усоверш. врачей, 1940.
6. Калинин А. М. Микрофлора кишечника при дистрофии. Сб. Гос. ин-та усоверш. врачей, 1943.
7. Королев С. А. Техническая микробиология молока и молочных продуктов. Пищепромиздат, 1940.
8. Коршун С. В. Основы медицинской микробиологии, Л., 1930.
9. Медовиков. К вопросу о роли бактерий в желудочно-кишечном канале. Труды Патолог. ин-та экспер. мед., СПб., 1909.
10. Палладина О. К., Кротова Т. А., Мазюкевич В. А. Биохимическая характеристика микрофлоры кишечника здоровых доноров Ленинграда и больных дистрофией в период Великой Отечественной войны. Труды Ленингр. ин-та переливания крови, вып. 1947 г.
11. Перетц Л. Г. Coli-антагонизм и coli-терапия. Диссертация, 1935.
12. Садокова И. П. Bact. acidophilum и ее идентификация. Микробиология, т. VII, вып. 9—10, стр. 1094, 1938.
13. Семиков В. Н. Механизм действия молочнокислых продуктов. Вопросы питания, т. III, 1934.
14. Barber a. Franklin. Bacteriology of stomach and duodenum in cases of peptic ulcer. Brit. Med. Journ., p. 951, June 22, 1945.
15. Kopeloff N. Lactobacillus acidophilus, Baltimore, 1926.
16. Lüger A. Klinische Stuhluntersuchung. Wien, 1928.
17. Metchnikoff E. The prolongation of life, G. P. Putman's Sons, N. Y., 1908.
18. Orla-Jensen S. Die echten Milchsäurebacterien. Ergänzungsband, Kϕbnhavn, 1943.
19. Porter G. R. Bacterial chemistry a. physiology, N. Y., 1946.
20. Rettger a. Cheplin. Therapeutic application of Bac. acidophilus, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., v. 19, p. 72, 1921.
21. Rettger a. Cheplin. Treatise on the transformation of the intestinal flore with special reference to the implantation of B. acidophilus. Vale Univ. Press, 1921.
22. Stokes G. L. Substitution of thymine for «Folic acid» in the nitrition of lactic acid bacteria. J. Bact., No. 2, p. 201, 1944.
23. Weinstein. The Influence of diet on the L. acidophilus content and H-ion concentration of the intestine. J., Bact., v. 35, p. 515, 1938.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ МОЛОЧНОКИСЛЫХ СТРЕПТОКОККОВ

1. ДИССОЦИАЦИЯ ГЕТЕРОФЕРМЕНТАТИВНЫХ СТРЕПТОКОККОВ

М. Р. Гибшман

Случаи о нестойкости молочнокислых стрептококков все чаще и чаще останавливают на себе внимание бактериологов-производственников. Но специальных работ по изменчивости молочнокислых стрептококков имеется совсем небольшое количество.

Старыгина [11] наблюдала образование шероховатых форм у трех культур Str. lactis (из 6 исследованных) под воздействием МПБ + 1% лактозы, причем диссоциация протекала медленно и для ее ускорения применялись фенол и сулема.

Расы с шероховатыми колониями характеризовались зернистой структурой последних и имели отходящие в сторону нити, видимые только под микроскопом. Эти расы отличались понижением, а иногда и полной потерей способности к сбраживанию лактозы.

Автор указывает, что образующиеся при диссоциации колонии не укладываются в схему S → R и способность отдельных культур образовывать те или иные расы является характерной их особенностью.

Либерман [8] отмечает чрезвычайную лабильность в свойствах шести исследованных ею культур Str. lactis. Она наблюдала образование 10 типов колоний и не нашла связи между формой колоний, микроскопической картиной и биохимическими свойствами культур.

Okulitch [14] наблюдала диссоциацию 2 культур Str. lactis и 2 Str. diacetilactis и образование новых рас, таких же, как и у Старыгиной. Диссоциация вызывалась 20-кратным пересевом культуры в среды с 2% глюкозы.

Автор останавливается на интересном явлении, а именно: при повторении опытов в более позднее время диссоциации или других изменений в свойствах культур обнаружено не было, и считает, что диссоциация наступает только в том случае, если культура находится «в чувствительном» к диссоциации состоянии. Автор не устанавливает ни времени, ни возможных причин перехода культур «в чувствительное» к диссоциации состояние.

Еще целый ряд исследований указывает на неустойчивость Str. lactis и Str. cremoris в лабораторных и производственных условиях (Hammer [13], Whitehead и Cox [15] и др.).

Наши работы [2, 3] по изучению гомо- и гетероферментативных стрептококков показали, что они способны изменять свои свойства под воздействием химических веществ, а также производственных процессов. Гетероферментативные стрептококки быстрее всего изменялись под воздействием 2% раствора глюкозы в среде Орла-Иенсена при погружении в нее платиновой пластинки. При изменчивости стрептококков в глюкозной среде в новых расах находили бактериофаг.

В работах по медицинской бактериологии имеются указания (Штуцер [12]), что процесс диссоциации патогенных бактерий, в частности у бруцелл, имеет сезонный характер и шероховатые формы легко возникают в осенние месяцы. Зимой тот же процесс протекает медленнее.

Имеется несколько работ по диссоциации Leuconostoc mesenterioides: возникновение слизеобразующих S — O — R-вариантов (Непомнящая

[10] и Каган [6]). Каюкова [7] указывает, что Leuconostoc citrovorus отщепляют слизеобразующие варианты, а также отмечает изменения в сбраживании углеводов. Бакушинская [1] наблюдала у вариантов Leuconostoc mesenterioides способность к агглютинации и назвала их Leuconostoc agglutinans.

О диссоциации (образование S — O — R-вариантов) у гетероферментативных стрептококков — Str. citrovorus (Leuconostoc citrovorus) и Str. paracitrovorus (Leuconostoc paracitrovorus) в литературе указаний не встречается. Известные по литературным данным случаи изменчивости молочнокислых стрептококков обычно вызывались искусственными средами при добавлении к ним углеводов, фенола, хлористого лития и др. Для нас особый интерес представляет изменчивость молочнокислых стрептококков под воздействием естественной среды, т. е. молока, в котором они культивируются в лабораторных и производственных условиях.

Экспериментальные данные

В данной работе сделана первая попытка — проследить за влиянием молока на молочнокислых стрептококков, а также выяснить (хотя бы примерно) амплитуду возможных изменений в их свойствах.

Наблюдения за культурами продолжались в течение 16 месяцев. С сентября 1945 г. по апрель 1946 г. изучались 11 культур гетероферментативных стрептококков, а в остальные 8 месяцев 1946 г.— 7 культур.

Кратко остановимся на характеристике 11 коллекционных культур гетероферментативных стрептококков, взятых для исследования [1].

Культуры предварительно несколько раз подряд были изолированы из одной колонии (на чашках с МПА).

1. Культуры С $^1/_3$, «Сметана» и С $^3/_4$ имели круглые, гладкие, светлые колонии S-формы размером 0,6—1,0 мм (рис. 1). Они образовывали большие количества летучих кислот и сбраживали лимонную кислоту. По сбраживанию углеводов их можно отнести к Str. paracitrovorus.

2. Культуры М $^2/_1$ и т $^1/_2$ имели круглые колонии, темнее первых, слабозернистые — не типичные S-формы размером 0,6—0,9 мм. Они образовывали летучие кислоты и сбраживали лимонную кислоту. По углеводам — Str. paracitrovorus (М $^2/_1$ слабо сбраживала лактозу).

3. Культуры №№ 18, 95 и 14 имели колонии темные, круглые, заметно зернистые, мутные, размером 0,92—1,5 мм O — R-формы. Они образовывали летучие кислоты и сбраживали лимонную кислоту, кроме культуры № 95. По углеводам их возможно характеризовать, как Str. paracitrovorus.

Культура С $^3/_2$ имела круглые, светлые, крупные колонии размером 0,8—1,8 мм, иногда с неровным краем и слабой зернистостью; при старении давала лопастные выросты; O-форма колоний. Летучих кислот давала мало, лимонную кислоту не сбраживала. В последнее время стала свертывать молоко и восстанавливать лакмус — Str. diacetilactis.

Все культуры третьей группы имели более высокий температурный оптимум, чем остальные культуры (30°), и хорошо развивались при 37 и 45°.

4. Культура т $^1/_4$ имела колонии более мелкие, круглые, темные, зернистые, центр более темный, размер 0,4—0,6 мм, ближе к R-формам. Летучие кислоты образовывала и сбраживала лимонную кислоту. По углеводам это Str. paracitrovorus.

5. Культура Str. citrovorus имела колонии круглые, темные, очень

[1] Культуры №№ 14, 18, 95 Str. citrovorus и С $^1/_3$ были старыми лабораторными культурами в возрасте 10—8 лет, культуры т $^1/_4$, т $^1/_2$, «Сметана», С $^3/_4$, С $^3/_2$ выделены из образцов сметаны, молока и творога в 1944 г. (Москва).

мелкие, размером 0,3—0,45 мм, ближе всех предыдущих к R-форме. Летучих кислот не образовывала и лимонной кислоты не сбраживала. Развивалась хорошо при 30—37°. По углеводам это Str. citrovorus.

Для работы в 1946 г. были оставлены 7 культур: т $^1/_4$, С $^1/_3$, С $^3/_4$, М $^2/_1$, «Сметана», 14 и Str. citrovorus. Исследуемые культуры высевались периодически из молока в среду Орла-Иенсена с 0,5% пептона, 0,5% дрожжевого автолизата и 2% глюкозы и помещались при 30°. Перевивки производились через 48 часов (иногда 72 часа) и повторялись по 20 раз. При первой перевивке, а затем через каждые два-три пересева в глюкозную среду культура отвивалась в молоко с лакмусом и высевалась на МПА. Ежедневно просматривались чашки с посевами (в течение 20—30 дней) и проводились наблюдения за реакцией. За период исследования было произведено 24 опыта. Перед каждым опытом культуры из молока высевались на МПА и отвивались в молоко с лакмусом, чтобы не принять изменений, происшедших в культурах под воздействием молока, за изменения, вызванные глюкозной средой.

Исследования показали, что гетероферментативные стрептококки поразному изменяли свои свойства в разные периоды года. При перевивках культур в молоке зимнего и весеннего периодов отмечается понижение их активности и образование шероховатых форм. При перевивке стрептококков в молоко летнего периода, наоборот, отмечается повышение их активности.

В данной статье мы останавливаемся на вопросах диссоциации гетероферментативных стрептококков — образовании R-форм, т. е. на изменчивости, не выходящей за пределы «вида» по существующим классификациям.

Образование дочерних колоний и шероховатых форм

В процессе работы мы наблюдали образование различных дочерних колоний. Они бывали темными или светлыми и обычно более шероховатыми, чем исходная материнская колония, и располагались вокруг нее в виде валика или на ее поверхности в виде мелких «комочков», видимых только при большом увеличении (× 100), или шероховатых участков и т. д.

В период с 5 сентября по ноябрь 1945 г. ни в одном случае не удалось наблюдать образования шероховатых вариантов, хотя материнские колонии с дочерними неоднократно высевались в глюкозную среду и на МПА.

С конца октября процесс образования дочерних колоний ускорился. Если раньше дочерние колонии появлялись на чашках через 10—15 дней, то в ноябре они образовывались через 3—4, иногда 2 дня. Количество поверхностных колоний значительно возросло, и они сплошь покрывали среднюю часть материнской колонии, если это были «комочки». Если же это были шероховатые участки, то они сливались и вся колония казалась шероховатой. При высеве в это время материнских колоний, сплошь покрытых разросшимися дочерними, непосредственно на МПА наблюдалось отщепление шероховатых рас.

Таким образом, только с середины ноября была обнаружена диссоциация гетероферментативных стрептококков с образованием R-форм.

Шероховатые варианты образовывались: при диссоциации культур с гладкими, светлыми колониями (S-форм), с крупными светлыми колониями, дающими при старении лопастные выросты (О-форм), и в одном случае исходная культура с темными, мелкими колониями (О—R— R-форма) целиком перешла в расу с шероховатыми колониями (R-форму).

Одни из культур диссоциировали после нескольких пересевов на глюкозной среде, для других достаточно было однократного воздействия, причем разные культуры диссоциировали в разное время. Диссоциация была отмечена у 5 культур из 11 исследованных.

Культуры №№ 14, 95, 18, т$^{1}/_{4}$, т$^{1}/_{2}$ и М$^{2}/_{1}$ образовывали самые разнообразные дочерние колонии, и было потрачено немало труда с целью вызвать диссоциацию. Производились посевы материнских колоний с дочерними на самые различные твердые и жидкие среды (картофельный агар, дрожжевой агар, агар с различным pH, глюкозную среду и т. д.), однако постоянно вырастали только обычные исходные колонии. Данные культуры оказались самыми стойкими. Позднее процесс диссоциации ускорился.

Для культур, которые диссоциировали в ноябре после нескольких воздействий глюкозной средой, в январе было достаточно однократного воздействия, а в феврале — апреле наблюдалась уже «спонтанная» диссоциация культур, т. е. под воздействием только молока, в которое они перевивались. Более того, этот период почти все коллекционные культуры молочнокислых стрептококков, культивируемые в молоке, изменили форму колоний — из гладкой S-формы превратились в более зернистые или шероховатые. В летнее время, когда активность гетероферментативных стрептококков значительно увеличивалась, образование шероховатых форм не наблюдалось или отмечалось в редких случаях.

Повидимому, само молоко, на котором культивируются молочнокислые стрептококки, и является причиной, вызывающей изменения в их свойствах.

Характеристика морфологических и культуральных свойств новых рас

В интересных работах Имшенецкого [5] и Мишустина [9] отмечается роль среды в образовании различных форм колоний. По наблюдениям Имшенецкого, стойкая шероховатая раса Sarcina flava на МПА постоянно образовывала складчатые колонии, а на мясном агаре (МА) — гладкие. При высеве гладких колоний с МА на МПА опять вырастали складчатые колонии. Мишустин указывает, что культуры Bac. mycoides на черноземах чаще встречаются в виде шероховатой R-формы, а на сероземах — в виде гладких вариантов S-формы.

Для выяснения вопроса, насколько стойкими являлись шероховатые формы гетероферментативных стрептококков при росте на различных средах, были исследованы МПА, МА, картофельный агар, сывороточный агар, МПА с 3% дрожжевого автолизата, дрожжевой агар из среды Орла-Иенсена с пептоном. Результаты исследования показали, что на всех средах выросли R-формы с различно выраженной степенью шероховатости, причем на МПА с 3% дрожжевого автолизата шероховатость была самой сильной, а на картофельном агаре у некоторых рас она была менее выраженной. Только одна шероховатая раса «Сметана» на всех средах (несмотря на многократное изолирование из одной колонии с целью очищения) образовывала колонии: шероховатые, шероховатые с гладкими секторами и гладкие. Отмечено также, что добавление к МПА одних углеводов усиливало шероховатость колоний (сахароза), а других — уменьшало (глицерин, сорбит). Следовательно, в период проведения работы R-формы гетероферментативных стрептококков довольно стойко сохраняли шероховатую форму колоний при росте на различных твердых средах.

Шероховатые колонии разных рас были различными как по размеру, так и по форме. Например, одни образовывали на МПА темные, шероховатые колонии (рис. 2), другие давали круглые, темные, выпуклые колонии, покрытые как бы пучками волокон (рис. 3) и т. д. Разница в виде колоний была настолько ощутимой, что по этому признаку мы определяли их происхождение.

При посеве шероховатых вариантов в МПБ одни из них — С $^{1}/_{3}$ и «Str. citrovorus шероховатый» развивались в виде хлопьев, оседающих на дно и стенки, оставляя бульон прозрачным. Другие — С $^{3}/_{2}$ и С $^{3}/_{4}$

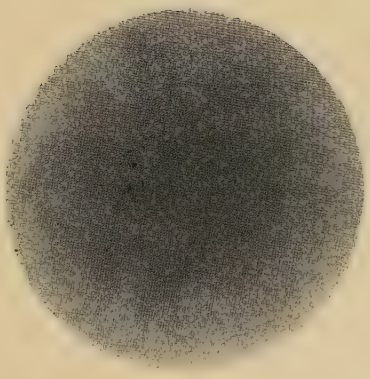

Рис. 1. Светлая, круглая, гладкая колония S-формы Str. paracitrovorus на МПА

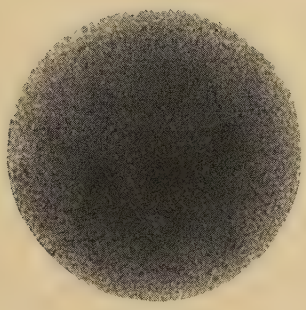

Рис. 2. Шероховатая колония R-формы Str. paracitrovorus на МПА

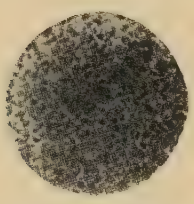

Рис. 3. Шероховатая колония R-формы Str. diacetilactis на МПА

давали в бульоне муть, быстро оседающую на дно, а «Сметана» давала обычную равномерную муть. При посеве уколом в желатину шероховатые расы развивались по всей линии укола.

Микроскопия клеток шероховатых рас из молока показала, что они имели вид длинных и коротких цепочек, часто с раздутыми клетками (С 1/3, «Сметана», «Str. citrovorus шероховатая» и С 3/2) или отдельных групп раздутых клеток (С 3/4). Сами исходные культуры часто образовывали длинные цепочки, например «Сметана», а ее шероховатая раса — короткие цепочки.

Биохимические свойства новых рас

Расы с шероховатыми колониями, образовавшиеся при диссоциации гетероферментативных стрептококков в период ноябрь 1945 — апрель 1946 г., имели свойства, приведенные в табл. 1.

Представленные данные показывают, что интересной, особенной чертой шероховатых вариантов гетероферментативных стрептококков являлась полная или частичная потеря способности к образованию летучих кислот и для всех рас — полная потеря способности к сбраживанию кислоты.

По остальным признакам — развитию при разных температурах и отношению к лакмусовому молоку — шероховатые расы почти не отличались от исходных, но несколько слабее сбраживали углеводы.

Раса с шероховатыми колониями, образовавшаяся из исходной культуры Str. citrovorus, потеряла способность к сбраживанию лактозы и сбраживала одну глюкозу, размер ее колоний уменьшился по сравнению с исходной (0,2—0,35 мм). Она, как и материнская культура, не образовывала летучих кислот и не сбраживала лимонной кислоты. В данном случае мы не имели диссоциации культуры в обычном понимании этого слова, а вся культура стала давать отчетливо шероховатые колонии после однократного воздействия глюкозной среды. Предполагаем, что таким образом идет образование шероховатых вариантов у культур близких по своим свойствам к R-формам. В феврале-апреле культура Str. citrovorus давала шероховатые колонии под воздействием только молока.

Как указывалось выше, шероховатая раса «Сметана» постоянно отщепляла гладкие, круглые, довольно светлые колонии, близкие к S-формам. R-форма С 1/3 стойко сохраняла шероховатую форму колоний, но один раз при высеве ее из среды Орла-Иенсена с глюкозой и лактозой (через 7 дней при 30°) на МПА выросло, кроме шероховатых колоний, несколько гладких, светлых, круглых. Свойства гладких рас, отщепившихся от шероховатых, были особенными (табл. 1).

Гладкая раса С 1/3 (из шероховатой) образовывала летучие кислоты в тех же количествах, что и исходная гладкая С 1/3, но лимонную кислоту сбраживала слабее. По сбраживанию углеводов она более походила на шероховатую, а лактозу сбраживала еще слабее.

Гладкая раса «Сметана» (из шероховатой) отличалась от шероховатой еще бо́льшим понижением активности. Она перестала сбраживать лактозу и декстрин и значительно слабее стала сбраживать мальтозу и лактозу. Самой интересной ее особенностью было отсутствие способности к образованию летучих кислот и сбраживанию лимонной кислоты. Эта раса, несмотря на гладкую форму колоний, имела биохимические свойства, характерные для шероховатых форм, в то время как другие шероховатые расы (С 1/3), несмотря на отчетливо шероховатую форму колоний, все же продуцировали некоторые количества летучих кислот, хотя лимонную кислоту и не сбраживали, т. е. имели некоторые черты гладких S-форм.

Следовательно, несмотря на то, что гладкие и шероховатые расы гетероферментативных стрептококков имели в основном довольно резкие

Характеристика свойств новых рас, образовавшихся при диссо

№ п/п.	Культура	Форма и размер колоний на МПА через 48 час. при 30° в мм	Реакция в лакмусовом молоке через 48 час. при 30°	Время свертывания молока при 30°
1	Материнская культура Str. paracitrovorus C 1/3	S гладкая 0,6—1,0	Не восстанавливает	Не свертывает
	Шероховатая C 1/3	R шероховатая зернистая 0,5—0,8	То же	То же
	Гладкая из шероховатой C 1/3	S гладкая гомогенная 0,6—0,8	» »	» »
2	Материнская культура Str. paracitrovorus C 3/4	S гладкая гомогенная	» »	» »
	Шероховатая C 3/4	R шероховатая	» »	» »
3	Материнская культура Str. paracitrovorus «Сметана»	S гладкая гомогенная 0,6—0,8	» »	» »
	Шероховатая «Сметана»	R шероховатая зернистая 0,6—0,7	» »	» »
	Гладкая из шероховатой «Сметана»	S гладкая 0,6—0,8	» »	» »
4	Материнская культура Str. diacetilactis C 3/2	O светлая слабозернистая 0,8—1,8	Восстанавливает	Свертывает через 48 час.
	Шероховатая C 3/2	R шероховатая зернистая 0,6—0,8	То же	То же
5	Str. citrovorus (исходная)	O — R — R темная зернистая 0,4—0,6	Порозовение	Не свертывает
	Str. citrovorus шероховатая	R шероховатая 0,2—0,35	Не восстанавливает	То же

Примечания: Летучие кислоты, образующиеся в количестве 10 на 1 л (в °Т), значения.

Летучие кислоты, образуемые в количестве большем, чем указанные цифры, счи

Сбраживание лимонной кислоты устанавливалось по увеличению летучих кислот

Таблица 1

циации ароматообразующих стрептококков в ноябре — апреле

Препарат из молока через 48 час. при 30°	Образование летучих к-т в молоке через 48 час. при 30°				Сбраживание углеводов в °Т (за вычетом контроля)										
	без лимонной кислоты		с 0,2% лимонной кислотой												
	кислотность в °Т	летучие к-ты в °Т	кислотность в °Т	летучие к-ты в °Т	арабиноза	ксилоза	маннит	сорбит	глицерин	глюкоза	мальтоза	галактоза	лактоза	сахароза	декстрин
Кокки и диплококки	54	2,7	101	4,7	0	0	0	0	0	22	20	14	22	18	12
Довольно длинные цепочки с раздутыми клетками	33	1,9	52	1,9	0	4	0	0	0	16	20	12	20	10	10
Диплококки и короткие цепочки	47	2,6	69	3,5	2	0	0	0	0	18	16	16	12	16	10
Кокки и диплококки	35	2,1	57	3,8	0	0	0	0	0	20	24	20	30	16	10
Цепочки средние	30	0,9	54	1,1	0	0	0	0	0	10	10	12	8	12	0
Довольно длинные цепочки кокков	48	2,7	84	4,4	10	0	0	0	0	26	18	16	26	14	8
Средние и короткие цепочки кокков	42	1,2	80	1,1	14	0	2	0	0	16	14	8	18	8	4
То же	36	1,1	72	0,9	4	0	0	0	0	20	8	0	12	8	0
Кокки и диплококки	63	1,3	78	1,0	0	0	0	0	0	36	34	30	30	6	14
Длинные цепочки с частью очень раздутых клеток	78	1,2	89	1,1	0	0	0	0	0	20	30	22	24	0	6
Короткие цепочки и диплококки	59	0,5	82	0,7	4	12	2	0	0	32	8	4	2	0	4
Диплококки	50	1,1	76	1,1	0	4	0	0	0	26	0	0	0	2	0

или до единицы на 100 мл (при микрометоде), считаются не имеющими практического

таются повышенными.
при добавлении в среду 0,2% лимонной кислоты.

различия в определенных биохимических свойствах, форма колоний иногда не вполне соответствовала их биохимической характеристике.

Проведенные исследования поясняют особенности в свойствах коллекционных культур гетероферментативных стрептококков — Str. citrovorus и № 95. Эти культуры имели некоторые признаки, характерные для R-форм гетероферментативных стрептококков,— не сбраживали лимонной кислоты и одна из них не образовывала летучих кислот.

Таким образом, понижением активности гетероферментативных стрептококков и образованием шероховатых вариантов, не дающих летучих кислот, возможно объяснить потерю аромата, часто наблюдаемую в зимний период в закваскаx, в состав которых входят ароматобразующие стрептококки.

Диссоциация гетероферментативных стрептококков в разные годы наступала не в одно и то же время. В 1945 г. пять культур диссоциировали в ноябре-декабре, а в 1946 г. в декабре диссоциация была отмечена у одной культуры.

Интересным моментом является также факт, что шероховатые формы, образующиеся из одной и той же культуры, но в разные годы, различались по своим биохимическим и морфологическим свойствам.

Исходная культура «Сметана», исследованная в разные годы, но в одно и то же время (ноябрь-декабрь), почти полностью сохранили свои свойства в отношении сбраживания углеводов (табл. 2). Шероховатая форма этой культуры, образовавшаяся в декабре 1946 г., отличалась от таковой, полученной в ноябре 1945 г.

Таблица 2

Биохимические свойства шероховатых рас Str. paracitrovorus «Сметана», полученных осенью 1945 и 1946 гг.

Культура	Форма колоний	Летучих к-т через 48 час. в 100 мл дистиллята		Сбраживание углеводов (кислотность в °Т за вычетом контроля)									
		кислотность в °Т	летучие к-ты в °Т	арабиноза	маннит	сорбит	глицерин	глюкоза	галактоза	лактоза	сахароза	мальтоза	декстрин
Ноябрь 1945 г.													
Исходная Str. paracitrovorus «Сметана»	S гладкая	48	2,7	10	0	0	0	26	16	26	14	18	8
Шероховатая раса «Сметана»	R шероховатая с гладкими секторами	42	1,2	14	2	0	0	16	8	18	8	14	4
Декабрь 1946 г.													
Исходная Str. paracitrovorus «Сметана»	S гладкая	47	2,0	10	0	0	0	18	16	16	14	14	6
Шероховатая «Сметана»	R шероховатая	44	0,7	0	0	0	0	18	4	0	0	0	6

Она не образовывала летучих кислот, а из углеводов сбраживала лишь глюкозу и перестала сбраживать лактозу, сахарозу и мальтозу,

т. е. в декабре 1946 г. образовалась типичная шероховатая форма гетероферментативных стрептококков.

В процессе работы было установлено также, что культуры, перевивающиеся в молоке, в течение года изменяли свое отношение к углеводам. Например, культура Str. citrovorus, исследованная в сентябре 1945 и 1946 гг., сбраживала примерно одни и те же углеводы (табл. 3).

Таблица 3

Сбраживание углеводов культурой Str. citrovorus (перевивающейся в молоке) в разные периоды года

Время исследования	Сбраживание углеводов (кислотность в °Т за вычетом контроля)											
	арабиноза	ксилоза	маннит	сорбит	глицерин	глюкоза	галактоза	лактоза	сахароза	мальтоза	декстрин	крахмал
Сентябрь 1945 г.	0	8	0	0	0	20	0	28	0	8	0	0
Декабрь 1945 г.	0	4	0	0	0	22	0	0	2	0	0	0
Март 1946 г.	0	0	0	0	0	16	0	0	0	0	0	0
Июнь 1946 г.	4	12	2	0	0	32	4	2	0	8	4	0
Сентябрь 1946 г.	0	0	0	0	0	24	0	16	0	6	0	0
Ноябрь 1946 г.	0	4	0	0	0	12	0	14	0	0	0	0

В декабре (1945 г.) она утратила способность к сбраживанию лактозы и продолжала сбраживать только глюкозу. В марте (1946 г.) она плохо сбраживала даже глюкозу. При перевивках в молоко летнего периода способность к сбраживанию углеводов у Str. citrovorus увеличивалась, и в конце июня она уже сбраживала глюкозу, ксилозу и еще ряд углеводов. В сентябре у нее восстанавливалась способность к сбраживанию лактозы, а в ноябре активность ее опять начинала снижаться. Эти колебания в сбраживании углеводов возможно объяснить только реакцией культуры на сезонные изменения в составе молока. Сезонные изменения в составе молока оказывают влияние также на вид колоний и способность гетероферментативных стрептококков к росту на МПА. Так, некоторые культуры в период с декабря по май, а иные до июня не росли на МПА. В отдельных редких случаях рост появляется через 4—5 дней в виде очень мелких (видимых только под микроскопом), темных шероховатых и даже угловатых колоний. Однако при высеве этих культур на сывороточный агар, МПА с 2% сахарозы или глюкозы рост получается удовлетворительный. Эти особенности некоторых гетероферментативных стрептококков (отмеченные в зимнее и весеннее время) напоминают свойства молочнокислых палочек, которые также хорошо растут на сывороточном агаре и средах со значительным содержанием сахара, но не растут на МПА.

В данном явлении, возможно, играет роль окислительно-восстановительный потенциал, а также потребность микроорганизмов в определенных питательных веществах.

Интересно было выяснить, как ведут себя молочнокислые стрептококки в естественных условиях в период, когда в лабораторных условиях наблюдалась диссоциация гетероферментативных стрептококков и переход S- в R-форму. В этот период десятки проб самоквасной сметаны и молока были высеяны на МПА. В декабре-апреле на чашках вырастали в основном шероховатые колонии R-формы и расплывшиеся колонии с неровными краями и большей или меньшей зернистостью — О-формы. Нормальных гладких колоний S-формы почти не встречалось.

На основании полученных данных возможно отметить, что изменчивость гетероферментативных стрептококков носит сезонный характер и важную роль в изменчивости молочнокислых стрептококков, повидимому, играет среда — молоко, на котором они культивируются. Последнее изменяется каким-то образом по временам года, что и вызывает переход культур в зимнее время в R-форму.

Предполагаем, что при переходе с пастбищного кормления на стойловое, когда коровы получают сухие грубые корма и позднее силос, состав молока изменяется, повидимому, за счет понижения белков, а также недостаточности витаминов и других факторов роста. Возможно, что известную роль играет и лактацигенный период.

В связи с этим появление шероховатых форм у гетероферментативных стрептококков в зимний период возможно объяснить их большей адаптированностью к молоку данного периода. Полученные результаты подтверждают указания Имшенецкого [4] и Мишустина [9] о роли среды в отборе R-форм.

При проведении работ по изменчивости бактерий необходимо указывать время, когда проводились исследования, а также место, где они проводятся, так как географическое положение и климат обусловливают наступление сезонов в разное время.

Дальнейшее углубленное изучение изменчивости молочнокислых стрептококков будет иметь не только теоретическое значение для правильного построения систематики, но и большое практическое применение, например, отбор производственно-полезных рас с учетом сезонных изменений, нахождение методов культивирования, устранение нескваШивания молока, которое иногда наблюдается в весенний период, и т. д.

В проведении экспериментальной работы участвовали научные работники А. И. Маненкова и Е. Н. Дерябина.

Выводы

1. Гетероферментативные стрептококки типа Str. citrovorus, Str. paracitrovorus и Str. diacetilactis способны к диссоциации под воздействием молока и среды Орла-Иенсена с глюкозой.

2. Изменчивость гетероферментативных стрептококков носит сезонный характер. В период с 5 сентября по 19 ноября 1945 г. никаких изменений в свойствах культур обнаружено не было, несмотря на 20-кратное воздействие глюкозной среды и проведение семи повторных опытов. В ноябре-декабре была обнаружена диссоциация у пяти культур из 11 исследованных и образование шероховатых форм. В январе-апреле 1946 г. образование шероховатых форм происходило «спонтанно», т. е. под воздействием молока, в котором культивировались гетероферментативные стрептококки. В летнее время отщепление шероховатых форм не наблюдалось, а в зимнее время они опять появились. Образование шероховатых форм в феврале-апреле возможно объяснить естественным отбором данных рас, как более приспособленных к молоку зимнего периода. Значительную роль в изменчивости молочнокислых стрептококков, повидимому, играет среда — молоко, состав которого изменяется каким-то образом по сезонам.

3. Шероховатые формы гетероферментативных стрепкококков обладали интересными свойствами. Они полностью или частично утрачивали способность к образованию летучих кислот и полностью теряли способность к сбраживанию лимонной кислоты.

В бульоне в большинстве случаев они давали рост хлопьями, которые оседали на дно, оставляя бульон прозрачным. Стойко сохраняли специфическую шероховатую форму колоний при росте на различных твердых средах (МПА, та же среда, но с 3% дрожжевого автолизата, дрожжевой агар, сывороточный агар, агар из среды Орла-Иенсена с

пептоном, картофельный агар и мясной агар без пептона), кроме одной расы («Сметана»), которая на всех средах отщепляла гладкие колонии и часто давала шероховатые колонии с гладкими секторами. Величина и вид шероховатых колоний были различными. В молоке шероховатые расы образовали короткие и длинные цепочки, часто с раздутыми клетками, а также группы раздутых клеток. По остальным признакам — развитию при разных температурах и отношению к лакмусу — они были похожи на исходные культуры, но слабее сбраживали углеводы, и у двух рас (из 5) отмечено ослабление и потеря способности к сбраживанию лактозы.

4. Форма колоний не всегда соответствует биохимическим свойствам расы. Шероховатые варианты в двух случаях (из 5) отщепили расы с гладкими колониями. Одна из последних имела свойства, близкие и к S- и к R-формам. Вторая, несмотря на гладкую S-форму колоний, обладала всеми признаками, характерными для шероховатых вариантов гетероферментативных стрептококков. Она не давала летучих кислот и не сбраживала лимонной кислоты.

5. Шероховатые формы, образовавшиеся в разное время из одной и той же культуры гетероферментативных стрептококков (ноябрь 1945 г. и декабрь 1946 г.), имели различные биохимические и морфологические свойства.

6. Способность к сбраживанию углеводов у некоторых гетероферментативных стрептококков изменялась при культивировании в молоке в течение года.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт сыродельной промышленности
Лаборатория бактериальных заквасок
г. Углич

Получено 2.VIII.1947

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакушинская О. А. Сравнительное изучение Leuc. mesenterioides и Leuc. agglutinans. Микробиология, т. IX, вып. 5, 1940.
2. Гибшман М. Р. и Банникова Л. А. Подбор заквасок для маслоделия. Микробиология, т. VIII, вып. 5, 1939.
3. Гибшман М. Р. Изменчивость молочнокислых стрептококков. Микробиология, т. XIII, вып. 5, 1944.
4. Имшенецкий А. А. Экспериментальная изменчивость микроорганизмов. Успехи соврем. биологии, вып. 1, стр. 45—80, 1946.
5. Имшенецкий А. А. Изменчивость бактерий. 1. Внешняя среда и образование складчатых форм у сарцин. Микробиология, т. X, вып. 1, 1941.
6. Каган Б. Изучение биохимических свойств Leuconostoc mesenterioides. Мікробіологічний журнал, вып. 3—4, 1935.
7. Каюкова Н. И. К экологии ароматообразующих бактерий молочнокислых продуктов. Микробиология, т. VI, вып. 1, 1937.
8. Либерман Л. Изменчивость Str. lactis под влиянием температур. Мікробіологічний журнал, т. II, № 1, 1935.
9. Мишустин Е. Н. и Пушкинская О. М. Распространение Bac. mycoides в почвах разных типов. Микробиология, т. X, вып. 4, 1941.
10. Непомнящая М. Л. О характере ослизнения жидких сахарных сред, вызываемого S,-R- и O-формами Leucon. mesenterioides. Мікробіологічний журнал, вып. 3—4, стр. 55—64, 1935.
11. Старыгина Л. П. Диссоциация молочнокислых бактерий. Микробиология, т. IV, вып. 2, 1935.
12. Штуцер М. И. Руководство по микробиологии и эпидемиологии, т. 1, под ред. Великанова. Биомедгиз, М.— Л., 1937.
13. Hammer B. W. and Harrimann W. Variation in the coagulation and proteolisis of milk by streptococci. Реф. Milchw. Literaturbericht. No. 46, 1931.
14. Okulitch O. Microbic dissociation of lactic acid streptococci. Canadian Journ. Res., v. 17, No. 6, p. 171, 1939.
15. Whitehead H. R. and Cox G. A. Observation on sudden changes in the rate acid formation in milk by cultures of lactic streptococci. J. Dairy Res., v. V, p. 197, 1934.

О РЕАКЦИИ ПЕТУНЬИ НА ВИРУС МОЗАИКИ ПОМИДОРОВ

М. И. Гольдин

В нашей работе [1] были приведены имеющиеся в литературе материалы о возможной специфичности реакции растений на Lycopersicum virus I. Анализ этих материалов показал, что доказательства самостоятельной природы этого вируса в достаточной мере не убедительны. В связи с этим существенный интерес представляла собой работа Berkeley [5]. Им было установлено, что на листьях петуньи при заражении соком помидоров, пораженных Lycopersicum virus I, возникали местные некрозы.

В литературе (Рыжков [2], Худына [4], K. Smith [9], Holmes [7]) мы находим, что вирус мозаики помидоров вызывает у петуньи общее заболевание, сопровождающееся мозаичной расцветкой.

Таким образом, некротическая реакция на листьях петуньи, согласно Berkeley, во-первых, свидетельствовала бы о самостоятельной природе Lycopersicum virus I; во-вторых, и в этом случае она явилась бы удобным приемом для обнаружения скрытых форм заболевания, вызываемого этим вирусом. Это заболевание причиняет весьма серьезный ущерб, в особенности в условиях крытого грунта. Отсутствие достоверных способов диагностики весьма осложняет борьбу с ним. Поэтому нам представлялось весьма важным выяснить также возможность использования петуньи для диагностики заболевания, приписываемого этому вирусу.

По данным Jarrett [8], K. Smith [9] и др., при заражении листьев петуньи соком растений, пораженных так называемым Lycopersicum virus I, получается лишь общее заболевание, некрозы не наблюдаются. Предварительные опыты, проведенные нами в конце вегетационного периода 1946 г., обнаружили, казалось бы, противоречивое явление. На листьях Petunia hybrida получались некрозы при заражении соком от растений, пораженных не только Lycopersicum virus I, но и мозаикой.

В 1947 г. были высеяны семена 4 сортов петуньи, в том числе Petunia violacea и Petunia hybrida. Материалом для заражения послужили образцы, собранные из различных овощных хозяйств Москвы и Ленинграда, от томатных растений имеющих некротические полоски на стеблях и черешках, а также различные формы мозаики. Всего было испытано 56 образцов. Часть результатов приведена в табл. 1. Некрозы на листьях петуньи можно было обнаружить на 3-й день. Как видно из рисунка, они весьма похожи на некрозы, которые получаются на листьях N. glutinosa после заражения вирусом мозаики помидоров.

При учете полученных данных можно было бы допустить, что некрозы на листьях петуньи возникают вследствие примеси какого-то другого вируса (картофельного, огуречного и др.).

В табл. 2 представлены опыты, в которых для заражения брался сухой материал, сохранявшийся более года. И в этом случае получалась некротическая реакция на петунье. В 1947 г. 29/IX было произведено испытание томатного растения, гербаризированного в 1940 г. В 1940 г. это растение было заражено нитевидной формой вируса мозаики табака. При заражении вытяжкой от этого растения на пяти листьях петуньи было получено следующее количество некрозов: 8; 1; 4; 0; 3.

Таблица 1

Результаты заражения петуньи соком томатных растений, имевших мозаичность листьев или некротические образования

№ п/п.	Характеристика пробы	Дата заражения	Место, откуда взят образец	Число некрозов на листьях петуньи
1	Мозаика. Желтая крапчатость	17/V	Москва Хозяйство № 1	40; 50
2	Лимонножелтая мозаика	27/VI	Москва Хозяйство № 1	43; 32
3	Зеленая мозаика	29/VI	Москва Хозяйство № 1	4; 2
4	Мозаика, сопровождающаяся уродством листьев	30/VI	Москва Хозяйство № 2	5; 9; 6; 5
5	То же самое, другой образец	10/IX	Ленинград Хозяйство № 6	4; 8; 39; 50; 12
6	Зеленая мозаика, резко выражена . . .	10/IX	Ленинград Хозяйство № 3	60; 46
7	Некрозы на листьях зигзагообразной формы. Некротические полоски на стеблях и черешках	30/V	Москва Хозяйство № 2	11; 6; 6; 6
8	Некрозы на листьях круглые, пепельного цвета. Некротические полоски на стеблях и черешках	19/VI	Москва Хозяйство № 7	24; 13
9	То же самое, другой образец	24/VI	Москва Хозяйство № 2	13; 31
10	Некрозы на листьях рыжевато-коричневые. Некротические полоски на листьях и черешках	19/IX	Ленинград Хозяйство № 6	7; 2

Таблица 2

Результаты заражения петуньи вытяжкой из сухих листьев растений, имевших мозаичность листьев или некротические образования
(образцы хранились более года)

№ п/п.	Характеристика пробы	Дата заражения	Место, откуда взят образец	Число некрозов на листьях петуньи
1	Зеленая мозаика, резко выражена . . .	8/VII	Москва Хозяйство № 1	4; 2; 10
2	Желтая мозаика	8/VII	Москва Хозяйство № 4	6; 1; 2
3	Зеленая мозаика	8/VII	Москва Хозяйство № 4	15; 20; 8
4	Мозаика, сопровождающаяся уродством листьев	6/VIII	Москва Хозяйство № 5	9; 8
5	Некрозы на листьях зигзагообразной формы. Некротические полоски на стеблях и черешках	30/V	Москва Хозяйство № 1	11; 8; 15
6	Некрозы на листьях круглые, черные. Некротические полоски на стеблях и черешках	8/VII	Москва Хозяйство № 1	3; 8
7	Некрозы на листьях круглые, рыжеватые. Некротические полоски на стеблях и черешках	8/VII	Москва Хозяйство № 2	2; 3; 1

Контроль на двух листьях петуньи (свежий сок мозаичного томата): 28; 10 некрозов.

Таблица 3

Результаты заражения петуньи прогретым соком мозаичных томатов

№ опыта	Количество некрозов на листьях петуньи	
	Сок мозаичного томата прогрет при 80° 10 мин.	Контроль: негретый сок
1	5; 3	16; 8
2	1; 0; 0	3; 4; 0
3	7; 3; 1	21; 8; 17

Прогретый сок мозаичных помидоров, как это видно из табл. 3, также вызывает некрозы на листьях петуньи.

Все эти данные свидетельствуют о том, что некротическую реакцию на листьях петуньи в данном случае вызывает вирус из группы мозаики помидоров.

Некрозы на листьях петуньи, зараженной вирусом мозаики помидоров

Таким образом, некрозы на листьях испытанных нами сортов петуньи получаются не только при заражении соком томатных растений, несущих разнообразные формы некротических образований. Аналогичная реакция получается и при заражении различными формами мозаичных заболеваний помидоров. Следовательно, и этот критерий специфичности Lycopersicum virus I не может быть принят во внимание.

Дальнейшая разработка мероприятий по борьбе с этим заболеванием должна базироваться в достаточной степени на изучении физиологических условий проявления и развития его симптомов.

Вместе с тем, полученные данные дают основание подчеркнуть необходимость критического освоения общепринятой номенклатуры вирусов растений.

Рыжков [3] пишет по этому поводу: «По мере накопления наших знаний о многообразии вирусов, встречающихся в природе, с одной стороны, и установления сходства между отдельными из них, с другой стороны, все более и более актуальным становится вопрос о принципах систематики вирусов.

До настоящего времени эти принципы остаются вовсе неустановленными и отсутствует договоренность по самым основным вопросам».

В руководстве Holmes [7] в качестве синонима вируса мозаики помидоров (tabacco-mosaic virus, typical strain) приводится вирус мозаики петуньи. Но многочисленные испытания, проведенные нами, показали, что вирус мозаики помидоров вызывает на листьях петуньи (у испытанных нами сортов) местные некрозы. Только в одном случае, а именно — сок томатных растений, зараженных вирусом «разновидность А типа аукубы мозаики», не вызывал некрозов на листьях петуньи. На основании полученных данных очевидно, что вопреки существующим положениям некротическая реакция петуньи при заражении вирусом мозаики помидоров — широко распространенное явление в природе.

Мы нашли в литературе лишь одно, весьма интересное аналогичное указание в докладах агрономической экспериментальной станции штата Индиана за 1931 г. [6], где сообщается следующее: «Вирус мозаики помидоров проявляет тенденцию к образованию некрозов на листьях Dwarf California Giant петунья, N. sylvestris и др.».

Как показали наши предварительные опыты, феномен образования местных некрозов на листьях петуньи может быть использован для выявления и учета вируса мозаики помидоров. Петунья является весьма неприхотливым растением. Она легко поддается культивированию и поэтому в некоторых случаях может заменить N. glutinosa.

Выводы

1. Испытанные нами 56 образцов томатных растений, имевших мозаичность листьев или некротические образования, вызывали на листьях петуньи некрозы.
2. Имеющиеся в литературе данные о самостоятельной природе заболевания, приписываемого Lycopersicum virus I, оказываются сомнительными.
3. Феномен образования местных некрозов на листьях петуньи может быть использован для выявления и возможного учета вируса мозаики помидоров.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 5.XI.1947

ЛИТЕРАТУРА

1. Гольдин М. Классификация вируса стрика томата. Микробиология, т. XVI, вып. 4, стр. 320, 1947.
2. Рыжков В. Проблемы естественной системы вирусов. Ж. общей биол., т. 8, № 3, стр. 169, 1947.
3. Рыжков В. Фитопатогенные вирусы. Москва, 1946.
4. Худына И. Вирусные болезни табака в СССР. ВИТИМ, вып. 130, 1396.
5. Berkeley G. A strain of the virus which caused streak in tomato. Can J. Res. sec. C., v. 14, p. 419, 1936.
6. Forty-fourth annual report of the indiana agricultural experiment station for the year ending. Rev. Appl. Myc., v. 12, p. 4, 1933.
7. Holmes E. Handbook of phytopathogenic viruses, 1939.
8. Jarrett P. Streak — a virus disease of tomatoes. Ann. Appl. Biol., v. 17, No. 2, p. 248, 1930.
9. Smith K. Two strains of streak: a virus affecting the tomato plant. Parasitology. v. 27, No. 3, 1935.

МАРТЫН ТЕРЕХОВСКИЙ (1740—1796) И ЕГО ДИССЕРТАЦИЯ О ПРИРОДЕ НАЛИВОЧНЫХ АНИМАЛЬКУЛЕЙ

С. Л. Соболь

За последние годы все с большей ясностью устанавливается тот факт, что в XVIII в., и особенно во второй его половине, количество русских, вовлеченных в науку, было значительно большим, чем мы это представляли себе ранее. Многие имена все еще остаются для нас неизвестными или неясными, о других мы знаем крайне мало и нередко, вплотную подойдя к изучению их работ и деятельности, неожиданно для себя обнаруживаем, что имеем дело с незаурядными учеными, занимающими значительное место в развитии естествознания в России, а в некоторых случаях — и за ее пределами.

Одним из таких ученых, и, как увидим далее, ученым выдающимся, является украинец Мартын Матвеевич Тереховский. Имя Тереховского как медицинского деятеля более или менее известно. Сведения о нем, правда довольно скудные и однообразно повторяющие друг друга, т. е., иными словами, восходящие к одному и тому же источнику, мы находим в различных сочинениях по истории медицины в России, а также в наших биографических и энциклопедических словарях XIX—XX вв. Новые данные, относящиеся к деятельности М. Тереховского в Петербургском ботаническом саду, обнаружил Липский, опубликовавший их в 1913 г. в своей истории Петербургского сада.

Во всех этих работах мы обычно находим и ссылку на главный научный труд Тереховского — его диссертацию 1775 г. «De Chao infusorio Linnaei». Но нигде, ни у одного автора, мы не обнаруживаем даже намека на содержание и значение этой работы. Впервые она привлекла к себе внимание уже в наше время. Указания на нее и краткие характеристики ее дали А. И. Опарин и Б. Л. Исаченко [1].

Тереховский был сыном священника казачьего полка в маленьком городке Гадяч под Полтавой[1]. Родился он в 1740 г. В то время мелкое украинское духовенство являлось наиболее культурной средой, давшей России в XVIII в., как и ранее в допетровской Руси, основные кадры просвещенных деятелей. Подавляющее большинство их получало образование в духовных училищах и академиях, главным образом, Киевской и Московской. Именно из числа слушателей этих академий вербовали своих студентов первые русские медицинские школы XVIII в. Так, «в 1754 г. по письменным приглашениям Медицинской коллегии и по собственному желанию более 300 студентов Киево-Могилянской Академии отпущено было в медико-хирургическую науку», как писал в своем доношении Екатерининской Комиссии об Уложении Киевский митрополит. Он же сообщал далее, что стремление украинской молодежи к поступлению на медицинский факультет Московского университета так велико, что «не проходит ни одного почти года, которого бы здешней академии студенты самопроизвольно не отпускаемы были в медицинскую науку» [3]. Такой путь проделали знаменитый врач-акушер Максимович-Амбодик, так же как и Тереховский, бывший сыном священника из Гадяча; младший товарищ Тереховского, автор интересной работы о строении почек, проф. Шумлянский; первый русский эпидемиолог про-

[1] Основные данные для биографии Тереховского почерпнуты нами из ряда источников, список которых приведен в перечне литературы [2].

славленный Данила Самойлович; ботаник проф. Соболевский, сменивший Тереховского в 1796 г. в должности заведующего Ботаническим садом; крупный анатом и хирург, ученик Тереховского проф. Саполович; профессора Медико-хирургической академии братья Смеловские и Загорский и многие другие.

Получив образование в Киевской академии, которую он окончил в 1763 г., Тереховский так же, как и другие его товарищи, решил стать врачом. Он отправляется в Петербург и поступает в Генеральный (т. е. учебный) сухопутный госпиталь, который успешно окончил в 1765 г., когда был произведен в лекари этого госпиталя. Интересуясь ботаникой, он добивается разрешения работать в Ботаническом саду на Аптекарском острове. Оба отделения сада,— аптекарский (т. е. медицинский) сад (или огород) и отделение «прозябословия» (т. е. ботаники),— помимо производственных задач, использовались для преподавания ботаники и фармации слушателям Госпиталя. В Ботаническом саду Тереховский оставался с 1767 по 1770 г. 30-ти лет, чувствуя, очевидно, что в Петербурге нет условий для дальнейшего углубления его знаний, он просит свое начальство разрешить ему поехать за границу «для обучения медицинским наукам, чтобы чрез то снискать совершеннейшее в оных знание и потом бо́льшую отечеству приносить пользу». В ответ на это он был уволен от службы с дозволением ехать за границу и учиться там на свой счет. Неизвестно, на какие средства жил и учился Тереховский в Страсбурге $4^1/_2$ года. Есть указание, что он, так же как Шумлянский и Амбодик, получил стипендию из средств, завещанных княгиней Голициной «для акушерскому делу обучения природных россиян в чужих краях». Это, однако, нуждается в проверке. Во всяком случае, можно думать, что Тереховскому жилось в Страсбурге тяжело. Вероятно, здесь он и на́жил те болезни, от которых впоследствии уже никогда не мог оправиться и которые довольно рано, в возрасте 56 лет, свели его в могилу.

Во второй половине XVIII в. Страсбургский университет славился своей медицинской школой. Там получили образование многие выдающиеся русские врачи. В 1763 г. в Страсбурге получил степень доктора медицины первый русский профессор анатомии Протасов; в 1767 г. эту же степень получил здесь будущий академик и знаменитый путешественник Лепехин; в 1783 г. здесь защитил свою диссертацию о строении почек Шумлянский; в 1785 г. диссертацию о печени человека — знаменитый Максимович-Амбодик; в 1791 г. диссертацию о всасывающей системе — первый русский клинический профессор Базилевич.

Тереховский окончил Страсбургский университет в 1775 г. Успешно защитив диссертацию, он возвращается в Петербург, где, по установившемуся правилу, для получения звания врача был подвергнут экзамену при Медицинской коллегии. Экзаминаторами его были председатель Медицинской коллегии Георг Аш и член коллегии проф. Пеккен. Очевидно, ответы Тереховского были настолько блестящими, что оба профессора должны были дать ему положительную аттестацию: «Se medicum eruditum et probe doctum praestitit» («проявил себя как образованный и хорошо обученный врач»). Однако только через полтора года по своем возвращении в Россию, в мае 1777 г., Тереховский получил право практики и одновременно был назначен «лекционным доктором» для преподавания подлекарям и ученикам фармакологии, патологии и практической медицины в Кронштадтском генеральном морском госпитале.

Когда в 1779 г. умер Христиан Меллен, лектор анатомии Петербургского сухопутного госпиталя, где когда-то учился и работал Тереховский, последний был переведен из Кронштадта на его место. Тут, однако, начинается, быть может, наиболее тяжелая и оскорбительная для него страница его жизни. Незадолго до того в госпиталь поступил на должность младшего или лекционного доктора приехавший в Россию из

Страсбурга врач Иоган Михаэль Диобольдт. Сдав экзамен при Медицинской коллегии, он получил в середине 1780 г. право практики и назначен был «младшим лекарем» в тот же госпиталь, где преподавал Тереховский. Здесь Диобольдт решил вытеснить Тереховского и занять его место лектора анатомии. Можно думать, что он пользовался при этом поддержкой Георга Аша, не любившего русских врачей и выдвигавшего на все лучшие места врачей немцев. Против Тереховского была сплетена целая сеть интриг, в которую Диобольдту удалось вовлечь многих подлекарей и прозекторов. Тереховский сначала старался не обращать на это внимания, но в конце концов обстановка стала невыносимой, и без того слабый и больной, он не в состоянии был работать и, не видя иного выхода, подал в отставку под предлогом болезни. 14 декабря 1780 г. он писал в своем заявлении, что «желает отдохнуть без казенного содержания на своей Родине, под Полтавой, с тем, что когда поправится, то опять готов поступить на службу, а если не поправится, то будет просить абшита». Его уволили 11 января 1781 г., а на его место был назначен Диобольдт.

Без службы, без всяких средств к существованию Тереховский уезжает из Петербурга. Остановившись в Москве, он узнает о вакантной должности лектора по ботанике и акушерству в Московском генеральном госпитале и обращается в Медицинскую коллегию с просьбой о предоставлении ему этой должности. Ответ был получен почти через девять месяцев и притом совершенно неожиданный для Тереховского: с 24 февраля 1782 г. он снова назначался на прежнее место. Оказалось, что Диобольдт, получив место лектора по анатомии, физиологии, хирургии и операциям бандажей, стал держать себя в Госпитале крайне заносчиво и однажды позволил себе дерзкую выходку по отношению к старшему доктору Госпиталя Фоме Трофимовичу Тихорскому. По жалобе Тихорского дело это рассматривалось в Медицинской коллегии. Раскрылись все интриги Диобольдта. Медицинская коллегия сослала его на службу сначала в Казанское наместничество, а затем в Сибирский корпус. Тереховский был возвращен на свое место.

С этого времени положение его упрочивается. В 1783 г. он получил звание профессора. Кроме анатомии, он взял на себя еще и чтение ботаники, в связи с чем был назначен директором Ботанического сада на Аптекарском острове[2] и поселился в саду. Деятельность Тереховского по заведыванию садом была исключительно благотворна. Он значительно расширил количество живых растений и семян. Известному историку Петербургского ботанического сада проф. Липскому удалось обнаружить список семян и растений сада, составленный Тереховским и собственноручно им переписанный в 1793 г. В сохранившемся при Списке рапорте Тереховского Медицинской коллегии он сам следующим образом характеризует свою деятельность: «Доношу Государственной Медицинской коллегии, что я по вступлении моем в ботанический сад не нашел в нем никаких семян, а растений весьма мало, поелику оной сад оставался чрез несколько лет без профессора, и что следовательно все те семена, которые при оном находятся ныне и о которых я в списке упоминаю, приобретены собственным моим иждивением». Зная состояние сада до вступления Тереховского в заведывание им, можно с уверенностью утверждать, что в этом рапорте нет ни малейшего преувеличения.

В начале 1780-х гг. возник вопрос об улучшении медицинского образования в России. Медицинская коллегия решила послать за границу для ознакомления с организацией там медицинского образования специальную комиссию. Комиссия эта состояла из Тереховского и Шумлянского. Оба пробыли за границей с 1784 до осени 1786 г. Основной труд

[2] Ныне Ботанический институт АН СССР.

по составлению отчета о поездке был выполнен Тереховским, так как Шумлянский вскоре по возвращении был назначен профессором в Московское врачебное училище. Историку Военно-медицинской академии проф. Скориченко удалось найти архивные документы, доказывающие, что и весь проект организации Медико-хирургической академии был разработан Тереховским. Он же составил проект устройства скотоврачебного (т. е. ветеринарного) училища.

На основе материалов и проектов Тереховского Медицинская коллегия уже в 1786 г. осуществила предварительную реформу: школы в Кронштадте, Москве и в двух генеральных госпиталях в Петербурге были отделены от самих госпиталей и было создано в этих трех городах по одной медико-хирургической школе; в каждой из них предметы были разбиты на три группы, каждой из групп руководил один профессор. Эта реформа не удовлетворила Тереховского и других русских ученых медиков. Тереховский настаивал на создании высшего учебного медицинского учреждения по типу европейских. Самое название Медико-хирургическая академия принадлежит ему. Несмотря на деятельную поддержку, встреченную Тереховским со стороны Фитингофа, тогдашнего первого члена Медицинской коллегии, большинство коллегии тормозило дело организации Академии. В 1792 г. Фитингоф назначил четырех первых профессоров Академии и среди них — Тереховского профессором натуральной истории. Смерть Фитингофа развязала руки противникам Академии, и она была организована лишь в 1798 г.

С 1787 г. Тереховский, помимо анатомии и ботаники, взял на себя еще и чтение химии и materia medica. Его лаборантом по преподаванию химии был Лев Максимович Амбодик, брат знаменитого Нестора. К середине 1790-х гг. в состоянии здоровья Тереховского, не переставшего болеть, наступило резкое ухудшение. Он просил освободить его от чтения сначала анатомии, а затем и химии. В июне 1796 г. Тереховский умер.

Тереховский был превосходным лектором. Его младший современник, ботаник и писатель Мартынов пишет о нем в своих «Записках»: «В это время [в самом конце 1780-х гг.] славился красноречивым преподаванием ботаники профессор Медицинского института Мартын Матвеевич Тереховский» [4]. Свои лекции Тереховский читал на русском языке, в противоположность преподавателям-немцам, в частности Диобольдту, которые читали по-немецки или латыни. Стремясь популяризировать науку среди более широких кругов, он написал ботаническую поэму — «Польза, которую растения смертным приносят». Она была издана дважды, в 1796 и в 1809 гг. Если прав автор «Словаря русских светских писателей» митрополит Евгений, Тереховский написал и еще одну дидактическую поэму: «Начальные основания естествословия».

Тереховский не оставлял научных занятий до самой смерти. По отзывам современников, это был очень скромный и исключительно трудолюбивый человек. Он усердно следил за успехами науки, русской и иностранной, и считался исключительно эрудированным человеком. Опытный врач, он все же больше интересовался теоретической медициной и естествознанием, что отразилось на составленном им проекте Медико-хирургической академии, в котором клинической медицине уделено меньше внимания. Тем не менее, будучи почетным членом Медицинской коллегии, он до конца жизни принимал деятельное участие в ее делах.

Такова биография Мартына Тереховского, насколько возможно восстановить ее по немногочисленным отрывочным данным, дошедшим до нас.

Главный научный труд Тереховского — его страсбургская диссертация 1775 г. «De Chao infusorio Linnaei». Тереховский поставил себе задачей исследовать природу и возникновение тех микроскопических

существ, разнообразные формы которых постоянно появляются в различного рода настоях. За небольшим исключением, все эти организмы были отнесены Линнеем, начиная с 10-го издания его «Системы природы», т. е. с 1757—1760 гг., к самому последнему подразделению его системы животного мира, а именно к Zoophyta — животно-растениям,

DISSERTATIO INAUGURALIS
ZOOLOGICO - PHYSIOLOGICA
DE

CHAO INFUSORIO LINNÆI

QUAM

PRO LICENTIA

SUMMOS IN MEDICINA HONORES

ET

PRIVILEGIA DOCTORALIA
LEGITIME IMPETRANDI
IN INCLYTA ARGENTORATENSIUM UNIVERSITATE
SOLENNI NATURÆ CURIOSORUM DISQUISITIONI
ANNO 1775. DIE 23. JUNII
SISTIT

MARTINUS TERECHOWSKY
UCRANO - RUSSUS
L. C.

horis pomeridianis a secunda ad quintam.

ARGENTORATI
Typis JOH. HENRICI HEITZII Universitatis Typogr.

Титульный лист диссертации М. Тереховского: «Зоолого-физиологическая инавгуральная диссертация о Chaos infusorium Линнея, которую для соискания законным путем высшего медицинского звания и докторских привилегий представляет Мартын Тереховский, украинец из России, на рассмотрение в надлежащем заседании изыскателей природы славного Страсбургского университета июня 22 дня 1775 года в назначенном помещении от двух до пяти часов пополудни. В Страсбурге, в типографии университетского типографа Иог. Генриха Гейтца».

составляющим V группу его червей. Последний, 312-й род Zoophyta — Volvox состоял из двух видов, второй из которых и носил знаменитое название Chaos. В 12-м издании, в 1767 г., вид Chaos был преобразован в род, один из видов которого, заключавший всех микроскопических животных из настоев, или наливочных животных, получил название Chaos infusorium [5]. Диссертация Тереховского и посвящена исследованию природы организмов, составляющих этот «вид» Линнея.

За десять лет до Тереховского Спалланцани в своем историческом споре с Бюффоном и Нидгемом осуществил всестороннее исследование микроскопических анималькулей, образующихся в настоях, с целью доказать их животную природу и невозможность их самопроизвольного зарождения [6]. За два года до Тереховского датский зоолог Оттон Мюллер построил первую систему «наливочных животных» — animalia

infusoria [7]. За десятилетие с 1765 до 1775 г. появился и еще ряд менее значительных работ по этому вопросу. Тем не менее среди широких кругов европейских биологов и врачей господствовали весьма смутные представления о природе этих организмов, а идеи Нидгема и Бюффона о возможности их самопроизвольного зарождения из органической материи под влиянием некоей таинственной силы, которую Нидгем назвал «Causa realis productrix» или «вегетативная сила», эти идеи продолжали пользоваться достаточной популярностью, тем более, что и столь крупный знаток наливочных анималькулей, как упомянутый Оттон Мюллер, в 1773 г. решительно присоединился к Бюффону и Нидгему [8].

Вопрос, очевидно, требовал пересмотра. Самостоятельно ли Тереховский выбрал для своей диссертационной работы эту тему или она была ему подсказана кем-либо из его учителей,— неизвестно. Тереховский указывает лишь, что решил экспериментально заняться этим вопросом, но смог приступить к работе только после того, как профессор Страсбургского университета Шурер, у которого он слушал физику, согласился «предоставить ему микроскопы и другие инструменты, открыть доступ в свою библиотеку, снабженную микрографиями, и руководить его наблюдениями» [9]. Хотя Шурер в своей диссертации по физике 1770 г. «De extensione corporum» и приводит свои наблюдения над появлением анималькулей в различных настоях, но он явно не был специалистом в этом вопросе. По крайней мере, Тереховский только три раза ссылается на него по частным и мелким поводам. Не приходится сомневаться, что, будь у Шурера какие-нибудь разработанные взгляды в этой области, Тереховский не преминул бы изложить их. Поскольку же он не упоминает ни одного другого страсбургского ученого, мы должны признать, что его работа по существу сделана им совершенно самостоятельно.

Свою диссертацию Тереховский определил как «зоолого-физиологическую». Он, однако, совершенно не затрагивает вопросов морфологии и систематики наливочных анималькулей. Различая среди них многообразные формы и отмечая мимоходом, что многие из этих форм представляют весьма различные, иногда далекие друг от друга виды и роды, он все же рассматривает всю группу суммарно и старается на протяжении всего исследования подчеркнуть ее общие биологические и физиологические особенности. В заключительном параграфе своей диссертации Тереховский говорит: «Пусть те, кому дано исследовать природу глубже, определят, относятся ли эти водяные анималькули к червям, или к насекомым, или к другому классу животных, к одному ли или ко многим; гермафродиты ли они или разнополые; кладут ли они яйца или рождают живых детей. Пусть они также, следуя Хиллу и Мюллеру, точнее определят их роды и виды. Это, однакоже, сам, стесненный узким пространством, я обойду и другим предоставлю впоследствии вспомнить» [10]. Целеустремленность работы, отказ от всего, что может отвлечь внимание от основной задачи диссертации, умение использовать только такой материал, который необходим для решения поставленного вопроса, и так логически расположить этот материал, что он последовательно и неуклонно ведет к этому решению, каково бы оно ни оказалось,— обнаруживают в Тереховском черты, которые впоследствии позволили ему стать выдающимся педагогом, талантливым воспитателем нескольких поколений русских врачей.

Прежде чем перейти к анализу самой диссертации, следует отметить еще некоторые черты Тереховского как исследователя, проявляющиеся в ней. Он превосходный стилист и красочный оратор. Он остроумен и нападает на своих противников то с мягкой иронией, то с гневным негодованием. Он очень внимателен ко всякому серьезному возражению и никогда не делает поспешных выводов и заключений. Наоборот, он крайне требователен к себе и вместе с тем исключительно

скромен. «Я,— говорит он,— приступил к делу, едва доступному для моих сил, ничтожность которых я вполне сознаю, однако, прилагая крайнее упорство, я должен во что бы то ни стало преодолеть его» [11]. Многие выдающиеся авторы, пишет он в другом месте, спорили «о природе и зарождении анималькулей; спор не решен и поныне, и намереваясь после этих авторов написать о новых наблюдениях, я не думаю, что напишу Илиаду после Гомера» [12].

И наконец, еще одна черта Тереховского как исследователя. Он подходит к вопросу без предвзятого мнения. Он ставит вопросы и строит опыты, которые должны дать ответ на эти вопросы, и, идя строго индуктивным путем, последовательно отвоевывает одну позицию за другой, неуклонно продвигаясь к своей цели. «В этом поистине важном споре,— говорит он,— не желая смотреть чужими глазами, ни клятвенно подтверждать чужие слова, я предпочел учиться у самой природы, не сомневаясь в том, что существа, наблюдаемые в настоях, хотя и очень малы, все же могут раскрыть величайшие тайны природы, хотя они и немы, могут более внятно, чем прочие, сообщить нам новые истины» [13]. «Я не поведу тебя,— говорит он далее,— далеко за пределы того, что я видел своими глазами, чтобы не вовлечь тебя в заблуждение; я буду всячески остерегаться прославить как несомненное то, что кажется только вероятным; я старался всеми силами быть честным и искренним» [14].

Последовательно осуществляя в своей работе это свое намерение «учиться у самой природы», а не следовать за признанными авторитетами, Тереховский вместе с тем обнаруживает и свою превосходную ориентированность в литературе вопроса. В исторических введениях к каждой из трех частей своей работы он дает исключительный по тонкости и мастерству анализ работ своих предшественников. На превосходном латинском языке, с цитатами из классических римских поэтов, критически излагает работы Лёвенгука и Гюйгенса, Гартсёкера и Жобло, Бекера, Адамса и Хилла, Христиана Вольфа, Бюффона, Нидгема и Спалланцани, Мушенбрёка, Реомюра и Ледермюллера, Врисберга, Линнея и Мюллера и многих других, чьи имена нами уже забыты. Он сопоставляет их мнения, прямо отметает все то, что не может быть подтверждено опытными данными, решительно отказывается принимать все то, что отдает мистикой и метафизикой. Словом, распоряжается большим научным багажом как любой западноевропейский ученый, а в отношении методологической последовательности обнаруживает при оценке разнообразных точек зрения исключительную последовательность. Надо думать, что уже одним этим Тереховский должен был высоко поднять в глазах своих слушателей престиж своей родины.

Приступая к своему исследованию, Тереховский прежде всего отмечает те огромные возможности, которые раскрылись перед наукой с изобретением и усовершенствованием микроскопа. Наука обязана микроскопу важнейшими открытиями, и лишь люди, чуждые науке, могут расценивать микроскопические наблюдения, как одно только «удовольствие для глаз». Чтобы вполне оценить смысл этого заявления Тереховского, следует вспомнить, что в его время микроскоп вышел далеко за пределы научных лабораторий и стал обязательным аксессуаром в салонах и гостиных высокопоставленной знати и бар. Тереховский понимал значение популяризации науки и, как мы уже знаем, сам занимался ею, но его раздражали скучающие барыни и господа, увлекавшиеся микроскопом как модной игрушкой, доставлявшей «Gemüts- und Augenvergnügen» — удовольствие для глаз и души. Намек Тереховского раскрывает перед нами его демократические настроения.

Вместе с тем он нападает на поверхностных наблюдателей, не умеющих пользоваться этим тонким оптическим инструментом, пра-

вилько оценить то, что они видят, и поддающихся оптическим иллюзиям. Тут достается и Даленпатиусу за его «человечка в сперматозоиде» и Жобло за его наполеоновского гренадера в коловратке. «Люди,— говорит он, цитируя известного анатома Альбинуса,— нередко полагают, что они видят то, чего они в действительности не видят, особенно если то, что они, по их мнению, видят, соответствует их взглядам» [15]. Описав типы микроскопических ошибок и причины этих ошибок, он приступает к изложению своих опытов.

В первой части он ставит вопрос: «происходит ли истинное движение некиих молекул или частиц, или телец, обычно называемых наливочными анималькулями, в самом настое или же это движение происходит только в глазу наблюдателя. И далее, если оно подлинно происходит в самом настое, то зависит ли оно от какой-нибудь внешней механической причины или же от какой-либо внутренней силы, и скрыта ли эта сила в настое или в самих молекулах» [16]. Надо подчеркнуть, что Тереховский вначале не хочет говорить о наливочных существах, анималькулях. Как бы уступая противникам животной природы наливочных существ, он готов пока считать их какими-то тельцами, молекулами и намерен решить только один вопрос,— какова природа их движений, вопрос, который он удивительно тонко и логически безукоризненно ставит.

Мы не будем здесь ни излагать, ни даже перечислять все его многочисленные и многообразные наблюдения и опыты. Чтобы доказать самостоятельность движения наливочных телец, он последовательно исключает все факторы, которые могли бы вызвать подозрение, что это движение иллюзорное или вызвано внешними причинами. Он вводит солнечный микроскоп, который демонстрирует движение телец на экране. Он наблюдает более крупные тельца, замеченные в микроскоп, тотчас же в той же капле невооруженным глазом и т. д. и приходит к выводу, что наливочные тельца в самых разнообразных настоях двигаются «вследствие какой-то внутренней силы, свойственной им, или, по меньшей мере, кроющейся в настое» [17]. Эту вторую альтернативу он исключает уже в следующей части, в которой выдвигает для экспериментального решения вопрос о животной природе наливочных телец.

Приведя мнения противников и сторонников животной природы наливочных телец, Тереховский ставит множество опытов, на этот раз уже гораздо более сложных. В постановке этих опытов он исходит из того, что если наливочные тельца действительно живые организмы, то им должны быть свойственны те же критерии жизненности, что и действительным животным. Спалланцани и многие другие микроскописты в решении этого вопроса исходили преимущественно из простого наблюдения. Тереховский идет гораздо дальше. Он широко пользуется экспериментальным методом, многие эксперименты были им осуществлены впервые или в значительно более широких размерах, чем это сделал Спалланцани, например, действие на наливочных анималькулей электрических разрядов различной силы, их реакция на различные яды и химические реактивы. Другие его опыты и наблюдения являются лишь повторением того, что уже было установлено Спалланцани, Мюллером, Врисбергом и другими микроскопистами. Но, повторяя эти опыты и наблюдения, он их многообразно и остроумно вариирует и, что самое главное, проводит по определенной системе, которая в конечном счете позволяет ему с неопровержимостью доказать, что наливочные тельца суть истинные анималькули. Он исследует их поведение при медленном испарении капли; он сравнивает движения анималькулей с теми движениями, которые происходят в различных вскипающих, бродящих и гниющих жидкостях, и показывает глубокое различие первых и вторых; он исследует чувствительность и возбудимость анималькулей при

прибавлении к капле настоя с ними серной кислоты, опия, сулемы, азотной кислоты, хлебного вина, щелочей, мочи и ряда других веществ; он исследует, какие предельные температуры выше и ниже нуля они способны еще переносить, не погибая, и сравнивает полученные данные с соответствующими данными, найденными для насекомых и других животных; действуя на них электрическими разрядами, он одновременно ставит контрольный опыт с мелкими рыбешками; он изучает характер их движений и показывает, что оно носит вполне произвольный характер; он сообщает свои наблюдения, подтверждающие наблюдения других авторов, о наличии у некоторых анималькулей специальных органов движения, о сохранении многими из них постоянной формы тела; помещая их под колоколом воздушного насоса, он показывает, что они нуждаются в воздухе для дыхания, что воздух, пропитанный запахом камфары или наполненный парами зажженной серы, убивает их, а воздух, пропитанный запахом мускуса, они выносят в течение 15 дней; наконец, что они растут, увеличиваются в размерах до известного предела.

Все это приводит его к заключению, что «двигающиеся наливочные существа — это не неодушевленные тельца и не органические молекулы среднего и хаотического царства [полуиронический намек на Бюффона и Нидгема], а истинные мельчайшие животные» [18]. Эту вторую часть своего исследования Тереховский заключает следующими словами: «Не стану задерживаться на жалких суждениях тех, которые сами не наблюдали, тех, которые, будучи слепы к свету опыта, хотят открыть при помощи сновидения то, что можно постигнуть только бодрствуя. Словам я предпочитаю опыты. По какому закону природы эти анималькули зарождаются в настоях, я еще не знаю. Я сам сказал бы, что они не могут зарождаться, если бы этого нельзя было видеть глазами и ощупывать руками» [19]. Третья часть диссертации и посвящена вопросу о зарождении наливочных анималькулей.

Тереховский подчеркивает, что перед ним стоит труднейшая задача: «Из сумерек,— говорит он,— я спускаюсь в киммерийский мрак. Легко открыть то, чего никто не искал с большой настойчивостью, но очень трудно выйти за те пределы, которых не могли преодолеть великие ученые, особенно когда они всячески добивались этого» [20].

Изложив сначала представления античных и средневековых авторов и ученых эпохи Возрождения о самопроизвольном зарождении немикроскопических животных и работы Лёвенгука, Реди и Валлиснери, опровергающие эти представления, Тереховский говорит, что «известное положение Гарвея — все живое из яйца — приобрело силу аксиомы». Однако с открытием мира микроскопических существ «некоторые современные философы снова обратились к отброшенному учению» [21]. Далее он излагает мнения сторонников и противников этой идеи и заканчивает историческую часть подробным рассмотрением опытов и взглядов Бюффона, Нидгема и Спалланцани.

Перейдя к самостоятельному обсуждению вопроса, Тереховский сначала доказывает невозможность самопроизвольного зарождения на том основании, что вода, взятая им из одного и того же колодца и использованная для настаивания различных субстанций, давала всегда одни и те же виды анималькулей. Наоборот, вода из различных источников — колодца, реки, болота и т. д.,— в которой он настаивал одну и ту же животную или растительную субстанцию, неизменно давала анималькулей разного рода. Он доказывает, что наливочные анималькули не являются личинками воздушных насекомых, вылупляющимися из яичек, отложенных этими насекомыми в воду. Экспериментальная часть этого раздела менее оригинальна, чем предыдущего. Тереховский в основном повторяет опыты Спалланцани и приходит к выводу, что наливочные анималькули должны обязательно присутствовать в

воде, применяемой для изготовления настоев. Если добиться их безусловного уничтожения в такой воде, путем ли ее кипячения или промораживания насквозь, то анималькули в дальнейшем никогда не образуются в настоях.

В многочисленных и разнообразно поставленных им опытах с хранением прокипяченных или предварительно промороженных настоев с доступом воздуха, в герметически закупоренных сосудах, в сосудах, опущенных горлышком в ртуть, в сосудах, запаянных так, что в них, как он пишет, «едва ли мог остаться пузырек воздуха величиной с булавочную головку» [22], наливочные анималькули никогда не появлялись. Но стоило ему только прилить к одному из таких настоев сырую воду, в которой заведомо находились анималькули, как они быстро начинали там размножаться.

Таким образом, в противоположность Спалланцани и другим авторам, Тереховский считал, что зародыши наливочных анималькулей в воздухе не содержатся, а попадают в настой только с водой. Этим, как ему казалось, он снимал вообще тот пункт спора между Нидгемом и Спалланцани, который касался известного вопроса о «порче» воздуха при сильном нагревании и прекращении якобы вследствие этого самопроизвольного зарождения. Как известно, именно это возражение Нидгема вынудило Спалланцани вторично выступить в 1776 г., через год после Тереховского, с новой работой, в которой он излагал новую серию своих опытов [23]. Он продолжал твердо настаивать на своем положении, что появление анималькулей в прокипяченных настоях возможно только при условии попадания их туда из воздуха.

На первый взгляд может показаться, что Тереховский упростил вопрос и допустил грубую ошибку в своих опытах. В самом деле, ведь Спалланцани в борьбе с Нидгемом допускал возможность попадания зародышей анималькулей в настои из воздуха, и все его эксперименты и были направлены к тому, чтобы устранить эту возможность. Между тем Тереховский все свои усилия направляет на то, чтобы доказать, что анималькули по самой природе своей водные организмы и попадают в настои только с водой. Смысл позиции, занятой Тереховским, можно уяснить себе, если принять во внимание следующее. Как уже указывалось выше, в 1774—1775 гг., когда Тереховский занялся экспериментальным исследованием природы наливочных анималькулей и вопроса об их самопроизвольном зарождении, итоги диспута между Спалланцани и Нидгемом оставались неопределенными. Как справедливо писал Дюкло, даже после второй работы Спалланцани, «спор между Нидгемом и Спалланцани не привел к какому-либо определенному заключению, каждый из них отчетливо показал, что его противник ошибался в ряде пунктов, но ни один из них не доказал, что сам он полностью прав» [24].

Следует принять во внимание, что в общепринятом изложении спора Спалланцани с Нидгемом допускается весьма серьезная историческая ошибка. Спалланцани и его единомышленникам неправильно приписывается, будто они говорили о микроорганизмах, причем незаметно для себя авторы под этими микроорганизмами понимают бактерий в современном смысле слова. Но Спалланцани (в своей работе 1765 г., которая только и была известна Тереховскому), не мог иметь в виду бактерий. Следует помнить, что только очень немногие и притом самые тонкие микроскописты того времени видели бактерий, которых они считали очень мелкими анималькулями. Мюллер в свои роды Monas и Vibrio включил, наряду с простейшими и жгутиковыми, и некоторых бактерий. Но при опытах по самопроизвольному зарождению Спалланцани, Нидгем, Тереховский и другие учитывали лишь простейших, жгутиковых, микроскопических ракообразных, одноклеточные водоросли, словом,— анималькулей в обычном понимании того времени, легко об-

наруживавшихся при помощи тогдашних микроскопов даже не очень искушенными микроскопистами. Надо помнить также, что брожение и гниение рассматривались тогда как своеобразный физико-химический процесс, при котором легко разлагающиеся вещества распадаются на бродящие частицы, передающие свое движение все большему и большему числу других частиц; говорили об особом виде «движения гниения или гнилостного движения». Как раз Спалланцани, Тереховский и другие противники самопроизвольного зарождения доказывали, что развивающееся гниение убивает анималькулей в настоях.

Тереховский последовательно стремился показать, что наливочные анималькули, с которыми практически имела дело наука того времени, из воздуха попадать не могут, ибо они по самой природе являются водными организмами и вне воды, как показали его многочисленные опыты, немедленно погибают. Зародыши анималькулей, существование которых в воздухе предполагал Спалланцани, являлись чисто гипотетическим, ничем не доказанным допущением. Цисты простейших в то время были совершенно неизвестны, и вопрос о возможности их попадания в настои через воздух не мог даже и возникнуть. Таким образом, Тереховский не упростил вопрос, а привел его в фактическое соответствие с тем кругом организмов с которыми манипулировали Спалланцани, Нидгем и сам он. Тереховский встает пред нами не только как тонкий экспериментатор, не уступавший Спалланцани, но и как проницательный исследователь, сумевший для своего времени вывести проблему из тупика, в который она зашла в результате не вполне отчетливого и не для всех убедительного исхода спора между Спалланцани и Нидгемом. Позиция, которую занял в вопросе о самопроизвольном зарождении Тереховский, была, понятно, по существу неправильна, но она представляет глубокий исторический интерес, как единственная в то время возможная попытка коренного решения проблемы. Поскольку Спалланцани в первом туре своего спора с Нидгемом не в состоянии был неопровержимо доказать попадание «зародышей» анималькулей в настои из воздуха, Тереховский повернул всю проблему таким образом, что в допущении Спалланцани вовсе и не было необходимости.

В заключительных параграфах 3-й части своей диссертации Тереховский высказывает и свое принципиальное отношение к различного рода виталистическим, мистическим и метафизическим концепциям. Он решительно отвергает всякие «творческие» и «пластические силы», неведомую «вегетативную» или «производящую способность», «органические молекулы», напоминающие ему животных-автоматов, придуманных, как он говорит, картезианцами, «жизненные духи» и т. п. Эти, пишет он, «тяжкие заблуждения использовались под видом истины для нападок на более здравую философию» [25]. Но теперь подлинная истина установлена, и он призывает теоретиков к использованию ее для построения представлений, соответствующих реальным процессам в природе, и практиков — для правильного понимания ряда жизненно важных явлений. «Патологи и диэтетики также должны увидеть некоторый свет во мраке. Сельские хозяева должны узнать, как нужно относиться к мнению тех, кто сводит причину появления головни к анималькулям, обнаруживаемым в настое головни» [26].

Приведенные данные рисуют Тереховского как выдающегося исследователя, мастера тонкого эксперимента, как передового ученого и мыслителя, двигавшего науку вперед и проникнутого материалистическими тенденциями. Ему, несомненно, принадлежит крупное и оригинальное место в истории вопроса о природе микроскопических организмов и самопроизвольном зарождении. Но как это ни странно, он оказался совершенно забытым, и на Западе, и у себя на родине. Единственный, насколько до сих пор известно, западноевропейский автор,

упомянувший работу Тереховского, был геттингенский натуралист Гмелин, издавший в 1788—1793 гг. переработанное 13-е издание «Системы природы» Линнея. Он полностью перестроил «Наливочный хаос» Линнея в соответствии с системой Оттона Мюллера и в небольшом списке работ о наливочных анималькулях [27] наряду с работой Мюллера указал и диссертацию Тереховского.

В России Тереховскому не удалось продолжить свою исследовательскую работу по изучению наливочных анималькулей. Но имеется один факт, доказывающий, что намерения такого рода у него были. При организации Медико-хирургической академии в 1797 г., т. е. через год после смерти Тереховского, у его наследников были куплены за 1000 руб. «Смитонов воздушный насос и две электрические машины» [28]. Когда и для каких целей приобрел Тереховский эти приборы? Несомненно, что не в годы его учения в Страсбурге. Там он пользовался для своих опытов приборами Физического кабинета Шурера, и, конечно, не обладал средствами для покупки дорого стоющих приборов. Скорее всего, он купил их во время своей поездки вместе с Шумлянским за границу в 1784—1786 гг. Так как физикой он никогда не занимался, то вполне естественно допустить, что эта покупка была сделана им в связи с намерением возобновить свои страсбургские исследования. Возобновил ли он их, мы не знаем. Скорее всего, это не удалось ему, так как он был до крайности загружен чтением лекций, работой по Саду и научно-организационной работой по реформе медицинского образования. Быть может, это обстоятельство и равнодушие, проявленное, повидимому, самим Тереховским в отношении популяризации своих исследований среди ученых, сыграли известную роль в том, что его замечательная работа обратила на себя столь мало внимания в свое время, а впоследствии оказалась совершенно забытой. Историк имеет, однако, все основания включить имя Тереховского в один ряд с именами Реди, Спалланцани, Шванна и Пастера, чьи работы в первую очередь привели к разрешению проблемы самопроизвольного зарождения [29].

Институт истории естествознания
Академии Наук СССР
Москва

Получено 20.IV.1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Опарин А. И. Возникновение жизни на земле. Изд. 2-е, М.—Л., (стр. 17, прим.), 1941; Б. Л. Исаченко, Очерки по истории микробиологии в России. Известия АН СССР, Отделение биологических наук, № 2, стр. 232, 1945.
2. Митрополит Евгений, Словарь русских светских писателей соотечественников и иностранцев, писавших в России, М., т. II, стр. 207, 1845; Никитин А. Краткий обзор состояния медицины в России в царствование Екатерины II, СПб., стр. 28, 63—64, 1855; Чистович Я. История первых медицинских школ в России, СПб., стр. 166—167, 210, 348—349, 588, CCCV—CCCVII и др., 1883; Змеев Л. Русские врачи-писатели, СПб., тетрадь 2-я, стр. 127, 1886; Егоров Н. и Георгиевский Н. Кафедра физики в Военно-Медицинской Академии за сто лет, 1798—1898, СПб., стр. 12, 1899; Скорниченко Г. Очерк истории медицинского образования до учреждения Медико-хирургической Академии в 1798 г., История И. Военно-медицинской (б. Мед.-Хир.) Академии за 100 лет (1798—1898), под ред. проф. Ивановского, СПб., стр. 19, 24—27, 30, 117, 1898; Русский биографический словарь, изд. И. Русского исторического общества, том «Суворова.— Ткачев», СПб., стр. 490—491, 1912; Липский В. И., Исторический очерк И. СПб. Ботанического сада (1713—1913), И. СПб. Ботанический сад за 200 лет его существования. под ред. А. А. Фишера-фон-Вальдгейма, ч. I, СПб., стр. 208—227, 1913 (на стр. 210—227 дан полностью составленный М. М. Тереховским «Index seminum et vegetabilium quae in horto botanico praesto sunt») и ч. III, Петроград, 1913—1915, стр. 447—449.
3. Бочкарев В. Врачебное дело и народное призрение в России XVIII века, «Сборник в честь Любавского», Петроград, стр. 465—466, 1917.

4. Записки Мартынова И. И., «Заря», прилож. к № 6, стр. 80, 1871.
5. Linnaei C. Systema naturae ... ed. X. Tomus I, Holmiae, 1758, p. 820—821; ed. XII, Tomus I, pars 2, Holmiae, pp. 1324—1327, 1767.
6. Spallanzani L. Saggio di osservazioni microscopiche concernenti il sistema della generazione dei Signori di Needham e Buffon, Modena, 1765.
7. Müller O. F. Vermium terrestrium et fluviatilium, seu animalium infusoriorium, helminthicorum et testaceorum, non marinorum, succincta historia, vol. I, pars 1, Havniae et Lipsiae, 1773.
8. Цит. работа (прим. 7), стр. 19—22.
9. «De chao», стр. 10.
10. Там же, стр. 60.
11. Там же, стр. 10.
12. Там же, стр. 9.
13. Там же, стр. 19
14. Там же, стр. 10.
15. Там же, стр. 12
16. Там же, стр. 13.
17. Там же, стр. 18.
18. Там же, стр. 37.
19. Там же, стр. 37.
20. Там же, стр. 38.
21. Там же, стр. 42.
22. Там же, стр. 59, примечание.
23. Spallanzani L. Osservazioni e sperienze intormo aglianimalucci delle infusioni (Opuscoli di fisica animale e vegetabile, Modena, 1776).
24. Duclaux E. Pasteur: histoire d'un esprit, Paris, 1896, цит. по книге W. Bulloch. The history of bacteriology, London 1938, стр. 78—79.
25. «De chao», стр. 59.
26. Там же, стр. 60.
27. Linnaei C. Systema naturae, ed. XIII, Tomus I, pars VI, p. 3023, Lipsiae 1788.
28. Скорниченко Г. Цит. работа (см. примечание 2), стр. 117.
29. Соболь С. Л. Экспериментальное исследование русского ученого XVIII века по проблеме самопроизвольного зарождения (подробный анализ экспериментов Тереховского и их сопоставление с работой Спалланцани). Тр. ин-та Истории естествознания АН СССР, т. III (в печати).

ПРОБЛЕМА АВТОТРОФИИ У МИКРООРГАНИЗМОВ

(Обзор)

С. И. Кузнецов

1. Формулировка понятия автотрофии у бактерий

Еще молодым ученым, поступив в лабораторию де Бари, Виноградский начал работать над изучением плеоморфизма у серобактерий. Уже первые попытки вырастить Beggiatoa в лабораторных условиях привели его к таким открытиям, которые трудно было переоценить. Путем тщательных наблюдений, подкрепленных несколькими простыми и убедительными опытами, он показал, что существуют организмы, не имеющие хлорофилла, однако способные развиваться в отсутствии готового органического вещества.

Виноградский (1887) пришел к выводу, что источником энергии для развития серобактерий является процесс окисления сероводорода, а источником углерода — углекислота. Несколько позднее подобные же исследования были проведены им и над железобактериями (1888).

Вскоре, вслед за железобактериями, Виноградский (1890, 1891) занялся изучением процесса нитрификации. Исследования с чистыми культурами нитрификаторов показали, что соответствующие организмы способны синтезировать материал клеток целиком из углекислоты и минеральных солей в темноте, используя энергию окисления аммиака до нитритов.

Этот процесс Пфеффером был назван хемосинтезом, а организмы — хемосинтетиками. Позднее Pringsheim (1932) ввел более удачный термин хемоавтотрофов.

Вслед за исследованиями Виноградского последовал целый ряд работ по выделению хемоавтотрофных организмов. Так, Beijerinck (1904) выделил Thiobacillus thioparus, Набоких и Лебедев (1906), а одновременно Kaserer (1906) и Niklewsky (1908) — водородных и т. д. Было показано, что целый ряд веществ, как соединения серы, аммиака, нитриты, водород, могут при их окислении дать энергию для синтеза органического вещества.

В 1922 г. Виноградский назвал эти организмы «аноргоксидантами» и формулировал их свойства следующим образом.

1. Развитие их происходит на строго элективных, по большей части строго минеральных средах, которые содержат специфические, способные к окислению неорганические вещества.

2. Существование этих организмов связано с наличием веществ, окисление которых является непосредственным результатом их жизнедеятельности.

3. Этот окислительный процесс является единственным источником энергии для развития указанных организмов.

4. Организмы не нуждаются в готовых органических веществах для построения своего тела или в качестве источника энергии.

5. Они большей частью не способны разрушать органическое вещество и даже задерживаются в своем развитии в его присутствии.

6. Они используют углекислоту как единственный источник углерода, который усваивается хемосинтетически.

Однако дальнейшие исследования Лебедева (1910) и Ruhland (1924) над водородными бактериями, Trautwein (1921) и Starkey (1934, 1935) над Thiobacillus Trautweinii, Molisch (1910), Lieske (1919) над некоторыми видами железобактерий показали, что эти бактерии одинаково хорошо могут развиваться в отсутствии неорганических источников энергии и при избытке органического вещества.

После этого уже невозможно было применять формулировку Виноградского ко всем хемоавтотрофным бактериям.

Однако, как пишет van Niel (1943), само понятие хемоавтотрофных организмов осталось неизменным. Сюда можно было относить организмы, которые способны развиваться в темноте на чисто минеральной среде и которые способны использовать энергию окисления какого-либо неорганического вещества для ассимиляции углекислоты.

Дальнейшие исследования над физиологией питания и развития хемоавтотрофных и гетеротрофных организмов сделали мало удовлетворительной и последнюю формулировку понятия.

В качестве примера van Niel (1943) приводит водородных бактерий. Hydrogenomonas flava и Hydrogenomonas vitrea совместно растут автотрофно, по отдельности же лишь гетеротрофно. Как показал Dudoroff, один из этих организмов нуждается в пиримидиновой части тиаминовой молекулы, а другой, синтезируя первую, нуждается в тиазоловой. При совместном росте они снабжают друг друга недостающей частью витаминного комплекса и способны, окисляя водород, за счет этого энергетического процесса синтезировать органическое вещество из углекислоты. По отдельности же, из-за отсутствия витаминов в неорганических средах, способны развиваться лишь гетеротрофно. Формально их следовало бы отнести к гетеротрофам, однако тогда терялась бы из виду их основная физиологическая особенность окислять водород.

С другой стороны, для ряда гетеротрофных организмов показана способность к усвоению молекулярной углекислоты (см. сводку Селибер, 1942). Правда, в ряде случаев углекислота идет на построение кислот, которые в дальнейшем не участвуют в синтезе органического вещества самих микроорганизмов.

Таким образом, хотя оба понятия и сближаются, но, как указывает van Niel, основная задача состоит не в том, как лучше формулировать понятие автотрофии, а в том, чтобы лучше разобраться в природе явления.

Наконец, Umbreit (1947) к строго автотрофным бактериям относит те, которые от остальных бактерий отличаются двумя особенностями: 1) их единственным источником энергии является окисление неорганических веществ; эти вещества незаменимы; 2) углекислота является единственным и незаменяемым источником углерода. Важным является не только то, что автотрофы способны использовать углекислоту (практически все живые клетки могут это делать), и не то, что углекислота может служить как единственный источник углерода, но основным является то, что данные организмы, кроме углекислоты, не могут использовать ни один источник углерода. Umbreit считает, что в действительности имеется только четыре точно установленных типа строго автотрофных бактерий. Это Nitrosomonas, Nitrobacter, Thiobacillus thiooxidans, Thiobacillus thioparus Beij. и формы, родственные этим видам. Остальные бактерии, способные использовать энергию окисления неорганических веществ, одновременно могут использовать и готовое органическое вещество и являются, таким образом, мезотрофами или факультативными автотрофами.

2. Основные группы автотрофных процессов

Baas-Becking и Parks (1927), рассматривая энергетику обмена у автотрофных бактерий, приводят возможные реакции, в результате ко-

торых свободная энергия может быть использована на усвоение углекислоты. Некоторые из неизвестных тогда процессов в настоящее время подтверждены экспериментально (Пельш, 1936). Ниже мы приводим таблицу, составленную на основании данных Baas-Becking и Parks и пополненную последними наблюдениями.

В дополнение нужно указать на описанный Kolkwitz (1938) организм Thionoma vaginata, который способен развиваться как за счет окисления железа, так и за счет окисления сероводорода, и наблюдения Сапожникова, который заменял необходимый для развития пурпурных серобактерий сероводород соединениями селена (1937).

3. Механизм усвоения углекислоты у автотрофных бактерий

В работах последнего времени было уделено большое внимание изучению самого процесса фиксации углекислоты у автотрофных бактерий. Наиболее удачным объектом оказались тионовые и серобактерии.

Еще первые наблюдения Engelmann (1888) над пурпурными серобактериями заставили его высказать предположение о способности этих организмов к фотосинтезу. Дальнейшие наблюдения van Niel и его сотрудников подтвердили первоначальную точку зрения Engelmann.

Van Niel, исходя из основного положения Клюйвера о единстве биохимической активности живых клеток, предложил удовлетворительное объяснение для ряда противоречий, наблюдавшихся в работах прежних авторов. Его экспериментальные данные (van Niel, 1931, 1941) послужили для обоснования положения, что в противоположность высшему растению Thiorhodaceae для гидрогенизации углекислоты в процессе фотосинтеза не могут использовать воду, а для этой цели они используют окисляемые соединения серы.

Так в общем виде использование углекислоты в процессе синтеза органического вещества он выражает формулой:

$$CO_2 + 2H_2A = CH_2O + A.$$

В том случае, когда донатором водорода является сероводород, то процесс идет согласно следующему уравнению

$$CO_2 + 2H_2S = CH_2O + H_2O + S_2.$$

Для серобактерий донаторами водорода могут быть не только окисляемые соединения серы, но также молекулярный водород и некоторые органические вещества. Таким образом, для изучения путей восстановления углекислоты были применены предложенные Kluyver (1931) методы «сравнительной биохимии». Сравнение фотосинтетических процессов показало, что общим для серобактерий и высшего растения является поглощение лучистой энергии и восстановление углекислоты. Донаторы же водорода могут быть различны.

Для решения вопроса о единстве процессов усвоения углекислоты при фотосинтезе и хемосинтезе Roelefsen (1935) произвел ряд опытов с пурпурными серобактериями. Он показал, что некоторые виды пурпурных фотосинтезирующих бактерий могут ассимилировать углекислоту в присутствии водорода. Эти организмы, подобно водородным бактериям, могут культивироваться в темноте, иными словами, вместо фотосинтетиков ведут себя, как хемоавтотрофы. Подобные же наблюдения были сделаны Gaffron (1942) над некоторыми видами водорослей. Как указывает van Niel (1943), эти наблюдения приводят к выводу: «или два совершенно различных механизма восстановления углекислоты существуют бок о бок в одном и том же организме, или усвоение углекислоты является ступенчатой реакцией и биохимический механизм ассимиляции CO_2 всегда независим от света у этих организмов. Поглощение

Таблица

Источник энергии для автотрофного развития	Формула	ΔF_{298} кал	Основные представители	Автор
1	2	3	4	5
1. Окисление водорода	$H_2 + {}^1/_2\ O_2 = H_2O$	−56 000	Bacillus hydrogenes Bac. pycnotica	Лебедев (1910) Ruhland (1924), Grohman (1924)
	$5H_2 + 2\ NO'_3 = N_2 + 4H_2O + 2OH'$	5× ×(−53 000)	Процесс наблюдался, но мало изучен	Baas-Becking и Parks (1927)
	$H_2 + N_2O = N_2 + H_2O$		Культура накопления похожа на Bac. Saussurei	Beijerinck и Minkman (1910)
	$H_2 + {}^1/_4\ SO_4'' = {}^1/_4\ S'' + H_2O$	−6 600	Vibrio desulfuricans	Никитинский (1907) Wight и Starkey (1945)
	$H_2 + {}^1/_4\ CO_2 = {}^1/_4\ CH_4 + {}^1/_2\ H_2O$	−7 900	Methanobacterium Omeliansky	Barker (1936)
	$H_2 + S = H_2S_{aq}$	−14 700	Perfiliewia	Пельш (1936)
2. Окисление соединений углерода	$CH_4 + 2O_2 = CO_2 + H_2O$ (1 атм. 1 атм.)	−195 000	Bac. methanicus Methanomonas methanica	Söhngen (1906) Münz (1915)
	$CO + {}^1/_2\ O_2 = CO_2$	−66 000	Proactinomyces oligocarbophilus	Lantzsch (1922)
3. Окисление соединений азота	$NH_4^{\cdot} + 1{}^1/_2\ O_2 = NO'_2 + H_2O + 2H^{\cdot}$	−66 500	Nitrosomonas	Winogradsky (1890)
	$+ NO'_2 + {}^1/_2\ O_2 = NO'_3$	−17 500	Nitrobacter	Winogradsky (1890) Meyerchof (1916)
4. Окисление соединений серы	$H_2S_{aq} + {}^1/_2\ O_2 = H_2O + S$	−41 500	Beggiatoa	Keil (1912)
	$12H_2S + 6CO_2 = C_6H_{12}O_6 + 6H_2O$	+212 000*	Chromatium	van Niel (1931, 1936, 1941) Roelefsen (1935)
	$S + 1{}^1/_2\ O_2 + H_2O = H_2SO_4$	−118 500	Thiobacillus thiooxydans	Waksman and Joffe (1922) Starkey (1925, 1935)
	$5S + 6KNO_3 + 2\ CaCO_3 = 3\ K_2SO_4 + 2CaSO_4 + 2CO_2 + 3N_2$	−66 000	Thiobacillus denitrificans	Beijerinck (1920)
	$5Na_2S_2O_3 + 8KNO_3 + 2NaHCO_3 = 6Na_2SO_4 + 4K_2SO_4 + 2CO_2 + H_2O + 4N_2$	−893 000	Thiobacillus denitrificans	Lieske (1912)
	$3Na_2S_2O_3 + 2{}^1/_2O_2 = 2Na_2SO_4 + Na_2S_4O_6$	−260 000	Thiobacillus thioparus	Nathanson (1902) Beijerinck (1904)
5. Окисление соединений железа	$4FeCO_3 + O_2 + 6H_2O = 4Fe(OH)_3 + 4CO_2$	−81 000	Leptothrix ochracea Spirophyllum ferrugineum Gallionella ferruginea	Winogradsky (1888, 1922) Lieske (1912) Холодный (1926)

* Процесс идет за счет фотосинтеза с потреблением свободной энергии.

же лучистой энергии в фотосинтезе является отдельной ступенью этой общей реакции и отделено от самого процесса восстановления углекислоты». В развитие этой точки зрения Vogler (1941) формулировал следующее положение: «Энергия не может быть перенесена от одной из двух сопряженных реакций к другой, без наличия общих соединений, входящих в ту или другую реакцию». Таким общим соединением, как показали Vogler и Umbreit (1942) и др. являются соединения фосфора. Сводка этих исследований приведена в работе Umbreit (1947). Для расшифровки этого вопроса наиболее удобным объектом оказался Thiobacillus thiooxydans.

Vogler (1942) показал, что если заставить Thiobacillus thiooxydans окислять серу в отсутствие углекислоты и затем поместить его в атмосферу азота с добавлением углекислоты, т. е. в условия, когда окисление серы не возможно, он начинает фиксировать углекислоту. Иными словами, если сера окислится в отсутствие углекислоты, то энергия, выделяющаяся в результате окисления, может быть сохранена в клетке и впоследствии использована на фиксацию углекислоты. Анализируя содержание фосфора в культурах, Vogler (1942) показал, что при окислении серы в отсутствие углекислоты фосфаты поглощаются клеткой, а в дальнейшем — при фиксации углекислоты в отсутствие окисления серы вновь выделяются клеткой наружу. При окислении серы энергия переводится в энергию фосфорилирования, а при фиксации углекислоты вновь используется энергия фосфорилированных соединений. Таким образом, эти соединения серы являются общими в двух реакциях окисления серы и фиксации углекислоты.

В дальнейшем Le Page (1942, 1943a, 1943b), разработав и усовершенствовав методику анализа, показал, что эти соединения относятся к аденозин-3-фосфатам и что они не идентичны аденозин-5-фосфатам, встречающимся в клетках гетеротрофных бактерий и высших животных. Albaum и Umbreit (1943) показали наличие аденозин-3-фосфата в растительных тканях и, повидимому, в клетках фотосинтетических бактерий, который в точности соответствует аденозин-3-фосфату, найденному у Thiobacillus thiooxydans.

Таким образом, Umbreit (1947), сопоставляя реакции использования энергии на построение клеточной субстанции за счет окисления энергетического материала, отмечает, что всюду, как у гетеротрофов, так и у Thiobacillus при хемосинтезе и у высших растений, соединения фосфора являются тем промежуточным переносчиком энергии, который объединяет две ступени сопряженных реакций. Является ли это случайным или основным фактом, покажут дальнейшие исследования.

К вопросам механизма усвоения углекислоты автотрофами непосредственно примыкает изучение процесса преобразования первичных продуктов ассимиляции в клеточную субстанцию. Как пишет van Niel (1943), мыслимы две рабочие гипотезы. Первая заключается в том, что каждое органическое вещество клетки образуется непосредственно из углекислоты и минеральных веществ. Вторая — органические вещества клетки образуются путем вторичных преобразований из одного или немногих первичных продуктов хемосинтеза. В последнем случае автотрофный организм должен быть способен производить превращения органических веществ или, теоретически, расти гетеротрофно на надлежащих органических субстратах. Повидимому, должна быть принята вторая точка зрения. В самом деле, в настоящее время показано, что такие организмы, как водородные бактерии (Ruhland, 1924), некоторые из серобактерий (Roelefsen, 1935; Cataldi, 1940) и метатрофных железобактерий (Cataldi, 1939; Калиненко, 1941) могут расти гетеротрофно в отсутствие окисляемого неорганического субстрата.

В отсутствие аммиака в культурах строго автотрофных нитрифицирующих бактерий Bömeke (1939) наблюдал наличие выделения угле-

кислоты за счет окисления органических веществ, накопленных в клетке.

У Thiobacillus thiooxydans аналогичный процесс наблюдал Vogler (1942). Однако попытки усилить процесс окисления путем добавления в питательную среду органических веществ, которые были мыслимы в качестве продуктов обмена, пока не дали удовлетворительного результата. Тем не менее van Niel (1943) считает весьма возможным, что соответствующие условия культуры и для этих бактерий будут подобраны и тогда окончательно будет доказана из двух указанных выше гипотез вторая, по которой идет синтез органических веществ.

Однако van Niel подчеркивает, что даже если удастся в лабораторных условиях культивировать строгих автотрофов на органических средах, это не будет указывать на отсутствие автотрофных процессов в природе. Экологические наблюдения показывают, что в природе автотрофные организмы в массовых количествах встречаются там, где имеется специфический неорганический субстрат.

Допущение у автотрофных организмов одновременно протекающих процессов дыхания с окислением синтезированного органического вещества и энергетического процесса окисления неорганического субстрата, по мению Bömeke (1939), может объяснить широкие расхождения в разных опытах отношения окисленного аммиака к ассимилированной углекислоте. Особенно это может сказываться в опытах, когда углекислота анализируется через значительный срок после того, как был окислен аммиак.

Нужно отметить, что в изучение обмена у автотрофных организмов все более и более вводится методика кратковременных опытов с использованием респирационных манометрических приборов (Roelfsen, 1935; Bömeke, 1939; Vogler, 1942; Kluyver и Manten, 1942, и др.). Повидимому, это даст возможность решить ряд принципиально важных вопросов в изучении обмена у автотрофных организмов.

4. Роль автотрофных бактерий в круговороте вещества в природе

После того как Виноградский (1897) сформулировал идеи круговорота вещества в природе, целый ряд работ был посвящен изучению распространения и деятельности автотрофных бактерий. Не останавливаясь на детальном изложении отдельных работ, целесообразно указать на основные или сводные работы, посвященные этому вопросу.

Нитрификация. Наиболее полно видовой состав нитрифицирующих организмов был изучен Виноградским (1933). В последнее время хотя и найдены организмы, способные переводить аммиак в нитриты только в присутствии органического вещества (в частности, микобактерии — Нечаева, 1947), но все же остается в силе утверждение Виноградского (1933), что в основном нитрификация есть результат деятельности автотрофных бактерий. Waksman и Madhok (1937) приходят к выводу, что в почве все процессы окисления аммиака до нитритов и нитратов идут за счет деятельности нитрифицирующих бактерий.

В море нитрифицирующие бактерии были найдены как в воде, так и в иловых отложениях открытого океана на большом расстоянии от берега (Исаченко, 1914, 1925, 1937; Carey, 1938; ZoBell, 1946). В пресноводных водоемах нитрифицирующие организмы также были обнаружены в воде и иловых отложениях (Салимовская, 1931; Кузнецов, 1925; Любимов, 1937). Таким образом, широкая распространенность этих организмов и способность их интенсивно нитрифицировать даже в условиях аэротенков (H. Winogradskiy, 1935; Ремезова[1] заставляют с уверенностью предполагать, что образование нитритов и нитратов в

[1] Доклад в Институте микробиологии, 1947 г.

природе идет в основном за счет деятельности автотрофных нитрифицирующих организмов.

Окисление соединений серы. Образование восстановленных соединений серы легко происходит в природе в тех случаях, когда имеют место анаэробные условия. Наибольшие концентрации сероводорода (780 мл/л) в природе были отмечены Hutshinsen в биоанизотропном озере Big soda lake в Америке. Громадные количества его при меньших концентрациях, повидимому, сосредоточены в морях и океанах, там, где наблюдается застой морской воды из-за разности солености в поверхностных и глубинных слоях. Значительные количества сероводорода сосредоточены и в пластовых нефтяных водах, а также образуются и на поверхности земли при анаэробном распаде белковых веществ.

Однако всюду, где только сероводород начинает проникать из восстановленных условий окружающей среды в окислительные, тотчас же наблюдается развитие тионовых или серных бактерий. Они встречаются начиная от температуры 80—90° (Miyoshi, 1897) и вплоть до 3—4° — температуры арктических водоемов (Исаченко, 1914, 1928; Bavendamm, 1924).

В образовании месторождений серы, по исследованиям Штурм (1937), также основную роль играют тионовые бактерии. С другой стороны, при внесении в почву молекулярной серы последняя быстро окисляется до серной кислоты за счет деятельности Thiobacillus thiooxydans (Lipman и др., 1916). На этом даже основан агрономический прием повышения усвояемости фосфорных удобрений (McLean, 1918). Во всяком случае эти бактерии играют большую роль в круговороте серы в почве (Klein, 1923).

Повидимому, деятельностью этих же бактерий можно объяснить и кислую реакцию некоторых вулканических озер Японии, в частности озера Ката-нума (Yoshimura, 1933), которые связаны с месторождениями серы вулканического происхождения. Наконец, в биоанизотропных водоемах мы имеем во многих случаях развитие красных или зеленых серобактерий на границе соприкосновения слоев воды, содержащих кислород и сероводород (Исаченко, 1914; Кузнецов, 1942; Jimbo, 1938, 1940; Duggeli, 1924, и др.). В массовых количествах серобактерии развиваются в грязевых и соленых озерах в местах скопления отмирающих водорослей (Исаченко, 1927). Таким образом, в природе биологическое окисление восстановленных соединений серы всюду идет за счет деятельности автотрофных бактерий. Повидимому, чисто химические процессы окисления сероводорода идут лишь там, где не могут развиваться бактерии (Исаченко и Егорова, 1939).

Окисление соединений железа. На широкое распространение железобактерий в природе указывает целый ряд авторов (Cholodny, 1926; Harder, 1919, и др.).

Хотя отложения окисленного железа в виде болотных и озерных руд в значительной мере имеют биологическое происхождение (Берг, 1947), но за счет деятельности автотрофных микроорганизмов, повидимому, образуются в основном озерные руды и лишь в некоторых случаях болотные, когда мы имеем выходы на поверхность богатых железистых источников.

Анализируя свежеизвлеченные конкреции со дна Карельских озер, Перфильев (1926) выделил культуру Gallionella и, повторив опыт Lieske (1912), получил образование железных конкреций в колбах на чисто минеральной среде с железными опилками в качестве энергетического материала и добавлением углекислоты в атмосферу. Аналогичной же точки зрения придерживался Буткевич (1928), изучая образование железных конкреций в море. Противоположное мнение высказывает Калиненко (1946), который считает, что образование конкреций происходит за счет осаждения окисного железа в слизистых влага-

лищах гетеротрофных бактерий. Однако свои опыты он проводил в условиях питательных сред с большим количеством легко усвояемых органических веществ, т. е. в условиях, далеко отличающихся от того, что наблюдается в природной обстановке. Изучая вопрос об осаждении железа железобактериями, Baier (1937) и Starkey (1945) отмечают, что осаждение железа может итти за счет деятельности 1) облигатно-, 2) факультативно-автотрофных железобактерий и 3) гетеротрофов. Последние используют связанное с железом органическое вещество. Starkey (1945) пишет, что хотя очень бурное осаждение железа в виде гидрата окиси обычно наблюдается, если железобактерии растут при окислении неорганических соединений железа, но слабая изученность физиологии железобактерий не дает еще возможности решить, по какой реакции протекает процесс в природе.

Окисление водорода. Образование молекулярного водорода в природе распространено очень широко. Водород является одним из основных газов, которые образуются при анаэробном распаде углеводов и белков (ZoBell, 1947). Окисление водорода может использоваться как энергетический процесс водородными бактериями, а также как побочный процесс гетеротрофами, обладающими активной гидрогеназой. Так, Lassellus и Still (1944) наблюдали окисление водорода в культурах Bact. coli и Bact. aerogenes.

Бактерии, окисляющие водород, также чрезвычайно широко распространены в природе. Они встречаются в почве, в воде морей (ZoBell, 1947) и пресных водоемов (Кузнецов, 1947). В евтрофных озерах, там, где иловые отложения продуцируют значительные количества озерного газа, последний растворяется в водной массе и усиленная деятельность бактерий, окисляющих водород и метан, зачастую приводит к полному исчезновению кислорода в гиполимнионе (Кузнецов, 1934). В морских отложениях тот водород, который не был использован на восстановление углекислоты, окисляется водородными бактериями. ZoBell (1947) считает, что отсутствие растворенного водорода в море целиком обусловливается деятельностью водородных бактерий. То же можно сказать и о почве. Повидимому, наличие органического вещества в окружающей среде не препятствует водородным бактериям вести автотрофный процесс окисления водорода. На это указывают непосредственные опыты Kluyver и Manten (1942), что в культурах, содержащих лактат, одновременно и независимо идет окисление водорода для синтеза углекислоты и использования лактата в процессе дыхания. Таким образом, вырисовывается громадная роль в круговороте веществ в природе автотрофного процесса окисления водорода.

Окисление метана. Как показали исследования Омелянского (1906), в природе, там, где имеется анаэробный распад органического вещества, в значительных количествах идет образование метана. Кроме того, метан является постоянным компонентом нефтяных и газовых месторождений. Просачиваясь через осадочные породы к земной поверхности, газ этот окисляется за счет деятельности Methanomonas methanica и некоторых видов микобактерий. Закономерное распространение этих бактерий послужило основой для микробиологической разведки на нефть. Окисление метана широко распространено и во всех поверхностных слоях почвы, где метан соприкасается в воздухом. Как указывает Буткевич (1938), в морях на поверхности иловых отложений в состав бактериальной пленки входят метановые бактерии, практически полностью препятствующие поступлению метана в водную массу. В пресных водоемах также бактерии, окисляющие метан, очень широко распространены в поверхностном слое иловых отложений (Кузнецов, 1947). В евтрофных водоемах, где иловые отложения содержат до 50% органического вещества и озерный газ в значительных количествах выделяется в водородную массу, метанокисляющие бактерии

ведут окисление и во всей водной толще озера (Кузнецов, 1934; Россолимо и Кузнецова, 1934).

Если принять во внимание, что метан прямо или косвенно образуется при любом анаэробном распаде органического вещества, то роль автотрофного процесса окисления метана в природе является очень большой.

Углеводороды более высокого молекулярного состава также легко окисляются в природных условиях. Но поскольку еще не совсем ясно, идет ли этот процесс, как автотрофный, или эти углеводороды непосредственно могут служить источником углерода для микроорганизмов, мы на этих процессах не останавливаемся. Отметим лишь, что, по мнению ZoBell (1945, 1946), благодаря деятельности организмов, разрушающих углеводороды, мы не наблюдаем на поверхности земной коры современного скопления нефти.

Таким образом, резюмируя все вышесказанное, мы должны отметить, что роль автотрофных организмов в круговороте веществ очень велика. Практически все процессы, связанные с окислением восстановленных соединений азота, серы, а также водорода, метана и частично железа, протекают с использованием освобождающейся энергии на ассимиляцию углекислоты.

Получено 13.III.1948

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

ЛИТЕРАТУРА

1. Берг Л. С. О происхождении железных руд типа криворожских. Вопросы географии, Сборн., т. 3, стр. 47, 1947.
2. Буткевич В. С. Образование морских железо-марганцевых отложений и участвующие в нем микроорганизмы. Тр. Морск. научн. ин-та, т. 3, стр. 1, 1928.
3. Буткевич В. С. О бактериальном населении Каспийского и Азовского морей. Микробиология, т. VII, стр. 1005, 1938.
4. Виноградский С. Н. О роли микробов в общем круговороте жизни. Изд. Ин-та эксп. мед., СПб., 1897.
5. Исаченко Б. Л. Исследования над бактериями Северного Ледовитого океана. Тр. Мурманск. научно-пром. эксп. 1906. Петроград, 1914.
6. Исаченко Б. Л. О бактериальных процессах в Азовском и Черном морях: а) о сероводородном брожении в Черном море; б) о нитрификации в море. Тр. 1-го Всес. Гидролог. съезда, 495, 1925.
7. Исаченко Б. Л. Микробиологические исследования над грязевыми озерами. Тр. Геол. ком., нов. сер., вып. 148, 1927.
8. Исаченко Б. Л. и Салимовская А. Г. К морфологии и физиологии тионовых бактерий. Изв. Гос. гидролог. ин-та. вып. 21, стр. 61, 1928.
9. Исаченко Б. Л. Микробиологические исследования морей СССР (1917—1937). Микробиология, т. VI, стр. 964, 1937.
10. Исаченко Б. Л. и Егорова А. А. О бактериальной пластинке в Черном море. Сборн., посв. научн. деят. Н. М. (Книповича (1885—1939). М.— Л., стр. 47, 1939.
11. Калиненко В. О. Строение и физиология Leptothrix ochracea Kütz. Микробиология, т. X, стр. 401, 1941.
12. Калиненко В. О. Роль бактерий в формировании железо-марганцевых конкреций. Микробиология, т. XV, стр. 364, 1946.
13. Кузнецов С. И. Результаты бактериологических исследований воды Глубокого озера. Тр. Гидроб. ст. на Глубоком озере, т. 6, вып. 2—3, стр. 46, 1925.
14. Кузнецов С. И. Микробиологические исследования при изучении кислородного режима озер. Микробиология, т. III, стр. 486, 1934.
15. Кузнецов С. И. Круговорот серы в озерах. Микробиология, т. XI, стр. 218, 1942.
16. Кузнецов С. И. Распространение в озерах бактерий, окисляющих газообразные и жидкие углеводороды. Микробиология, т. XVI, стр. 429, 1947.
17. Лебедев А. Ф. Исследование хемосинтеза у Bacillus hydrogenes. Одесса, 116 стр., 1910.
18. Любимов В. И. Нитритные бактерии в грунтах озер и водохранилищ. Микробиология, т. VI, стр. 351, 1937.
19. Нечаева Н. Б. Микобактерия, окисляющая аммиак в нитриты. Микробиология, т. XVI, стр. 418, 1947.

20. Пельш А. Д. О новых автотрофных водородно-серных бактериях Hydrogenthiobacteria. Тр. соляной лаб. АН СССР (Всес. ин-т галлургии), т. V, стр. 109, 1936.
21. Перфильев Б. В. Новые данные о роли микробов в рудообразовании. Изв. Геол. ком., т. 45, стр. 785, 1926.
22. Россолимо Л. Л. и Кузнецова З. И. Донное газоотделение как фактор кислородного режима озер. Тр. Лимн. ст. в Косино, вып. 17, стр. 87, 1934.
23. Салимовская А. Г. Бактериологические исследования на Онежском озере летом 1930 г. Предвар. сообщение. Изв. Геол.-геогр. ин-та, № 36, 1931.
24. Сапожников Д. И. О замене серы селеном в фоторедукции угольной кислоты сернопурпурными бактериями. Микробиология, т. VI, стр. 643, 1937.
25. Селибер Г. Л. Углекислота как фактор жизнедеятельности гетеротрофных организмов и тканей. Природа, № 5—6, стр. 85, 1942.
26. Штурм Л. Д. К изучению микрофлоры серосодержащих пород. Микробиология, т. 5, стр. 481, 1937.
27. Albaum H. A. and Umbreit W. W. Phosphorus transformations during the development of the oat embryo. Am. J. Botany, v. 30, p. 553, 1943.
28. Baas-Becking L. G. M. and Parks G. S. Energy relations in the metabolism of autotrophic bacteria. Physiol. Rev., v. 7, p. 85, 1927.
29. Baier C. R. Die Bedeutung der Bakterien für die Bildung oxydischen Eisen- und Manganerze. Geolog. d. Meere u. Binnengewässer, Bd. 1, S. 335, 1937.
30. Barker H. A. On the biochemistry of the methane fermentation. Arch. Mikrob., Bd. 7, S. 404, 1936.
31. Bavendamm W. Die farblosen und roten Schwefelbakterien des Süss- und Salzwassers. Jena, 1924.
32. Beijerinck M. W. Über die Bakterien, welche sich im Dunkeln mit Kohlensäure als Kohlenstoffquelle ernähren können. Ctbl. Bakt. Ab. II, Bd. 11, S. 593, 1904.
33. Beijerinck M. W. und Minkman D. Bindung und Verbrauch von Stickoxydul durch Bakterien. Ctbl. Bakt. Ab. II, Bd. 25, S. 30, 1910.
34. Beijerinck M. W. Chemosynthesis at denitrification with sulfur as source of energy. Proc. Sect Sci. Kon. Acad. Wetenschappen Amsterdam, v. 22, p. 899, 1920.
35. Bömeke H. Beiträge zur Physiologie nitrifizierender Bakterien. Arch. Mikrob. Bd. 10, 385, 1939.
36. Carey C. The occurence and distribution of nitrifying bacteria in the sea. Jour. Mar. Res., v. I, p. 291, 1938.
37. Cataldi M. S. Estudio fisiologico y systematico de algunas Chlamydobacteriales. Diss. Buenos Aires, 1939 (цитировано по v. Niel, 1943).
38. Cataldi M. S. Revista Inst. Bacteriologico (D. N. 4), 1940 (цитировано по van Niel, 1943).
39. Cholodny N. Die Eisenbakterien. Pflanzenforschung, Heft 4, Jena, 1926.
40. Duggeli M. Bacteriologische Untersuchungen am Ritomsee. Z. Hydrob., Bd. 2, S. 65, 1924.
41. Engelmann Th. W. Die Purpurbacterien und ihre Beziehungen zum Licht. Bot. Ztg., Bd. 46, S. 661, 1888.
42. Gaffron H. Reduction of carbon dioxide coupled with the oxyhydrogen reaction in algae. J. Gen. Physiol., v. 26, p. 241, 1942.
43. Grohmann G. Zur Kenntnis Wasserstoff-oxydierender Bakterien. Ctbl. Bakt. Abt. II, Bd. 61, S. 256, 1924.
44. Harder E. C. Iron depositing bacteria and their geologic relations. Prof. paper 113, U. S. Geological. Survey, Dept. of Interior, 1919.
45. Jimbo T. Beobachtungen einiger thiotropher Seen Japans mit besonderer Berücksichtigung der Schwefelbakterien. Sc. Rep. Tôhoku Imp. Univ. Ser. Biolog., v. 13, p. 259, 1938.
46. Jimbo T. Die Verbreitung der Purpur- und Grünbakterien in Yumoto (Nikko) in Beziehung zur Schwefelwasserstoffkonzentration. Sci. Rep. Tôhoku. Imp. Univ. Ser. biol., v. 13, p. 229, 1938.
47. Jimbo T. Beobachtungen einiger thiotropher Seen Japans mit besonderer Berücksichtigung der Schwefelbakterien. II. Sci. Rep. Tôhoku Imp. Univ., 4, Ser. biol., v. 15, p. 7, 1940.
48. Kaserer H. Die Oxidation des Wasserstoffs durch Mikroorganismen. Ctbl. Bakt. Abt. II, Bd. 16, S. 681, 769, 1906.
49. Keil F. Beiträge zur Physiologie der farblosen Schwefelbakterien. Beitr. Biol. Pflanzen (Cohn's), Bd. 2, S. 335, 1912.
50. Klein G. und Limberger A. Zum Kreislauf des Schwefels im Boden. Biochem. Z., Bd. 143, S. 473, 1923.
51. Kluyver A. J. The chemical activities of microorganisms. Univ. of London. Press. 1931.
52. Kluyver A. J. and Manten A. Some observations on the metabolism of bacteria oxidizing molecular hydrogen. Ant. v. Leevenhock, v. 8, p. 71, 1942.
53. Kolkwitz R. Thionema vaginatum eine neue Schwefelbacterie. Ber. Deut. Bot. Ges., Bd. 58, S. 11, 1938.

54. Lassellus J. B. and Still J. L. The oxidation of moleccular H by bacteria. Australien J. Sci., v. 7, p. 93, 1944.
55. Lantzsch K. Actinomyces oligocarbophilus (Bacillus oligocarbophilus Beij.). Sein Formwechsel und seine Physiologie. Ctbl. Bakt. Ab. II, Bd. 57, S. 309, 1922.
56. LePage G. A. The biochemistry of autotrophic bacteria. The metabolism of Thiobacillus thiooxydans in the absence of oxidizable sulfur. Arch. Biochem., v. 1, p. 255, 1942.
57. LePage G. A. and Umbreit W. W. Phosphorylated carbohydrate esters in autotrophic bacteria. J. Biol. Chem., v. 147, p. 263, 1943a.
58. LePage G. A. and Umbreit W. W. The occurence of adenosin-3-triphosphate in autotrophic bacteria. J. Biol. Chem., v. 148, p. 255, 1943b.
59. Lieske R. Beiträge zur Kenntnis der Physiologie von Spirophyllum ferrugineum, einem typischen Eisenbakterium. Jahrb. Wiss. Bot., Bd. 49, S. 91, 1912.
60. Lieske R. Zur Ernährungsphysiologie der Eisenbacterien. Ctbl. Bakt., Ab. II, Bd. 49, S. 413, 1919.
61. Lipman J. G., McLean H. C. and Lint H. Sulfur oxidation in soil and its effect on the availability of mineral phosphates. Soil. Sci., v. 2, p. 490, 1916.
62. McLean H. C. The oxidation of sulfur by microorganisms and its relation to the availability of phosphates. Soil. Sci., v. 5, p. 251, 1918.
63. Meyerhof O. Untersuchungen über den Atmungsvorgang nitrifizierender Bakterien. I, II u. III. Arch. ges. Physiol., Bd. 164, S. 353; Bd. 165, S. 229; Bd. 166, S. 240, 1916.
64. Miyoshi M. Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbacterien der Thermen von Yumoto bei Nikko. J. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo, v. 10, p. 143, 1897.
65. Molisch H. Dit Eisenbakterien. Jena, 1910.
66. Münz E. Zur Physiologie der Methanbakterien. Diss., Halle, 1915.
67. Nabokich A. J. u. Lebedeff A. F. Über die Oxydation des Wasserstoffes durch Bakterien. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 17, S. 350, 1906.
68. Nathanson A. Über eine neue Gruppe von farblosen Schwefelbakterien und ihren Stoffwechsel. Mitt. Zool. Sta. Neapel, v. 15, p. 655, 1902.
69. Van Niel C. B. On the morphology and physiology of the purple and green sulfur bacteria. Arch. Mikrob., Bd. 3, S. 1, 1931.
70. Van Niel C. B. On the metabolism of the thiorhodaceae. Arch. Mikrob., Bd. 7, S. 323, 1936.
71. Van Niel C. B. The bacterial photosynthesis and their importance of the general problem of photosynthesis. Adv. Enzym., v. I, p. 263, 1941.
72. Van Niel C. B. Biochemical problems of the chemoautotrophic bacteria Physiol. Rev., v. 23, p. 338, 1943.
73. Nikitinsky J. Die anaerobe Bindung des Wasserstoffes durch Mikroorganismen. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 19, S. 495, 1907.
74. Niklewski B. Ein Beitrag zur Kenntnis wasserstoffoxydierenden Mikroorganismen. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 20, S. 469, 1908.
75. Niklewski B. Über die Wasserstoffoxydation durch Mikroorganismen. Jahrb. wiss. Bot., Bd. 48, S. 113, 1910.
76. Omelianski W. L. Über die Methanbildung in der Natur bei biologischen Prozessen. Ctbl. Bakt., Abt. II, Bd. 15, S. 673, 1906.
77. Pringsheim E. G. Neues über Purpurbakterien. Naturwiss., Bd. 20, S. 655, 1932
78. Roelefsen P. A. On photosynthesis of the thiorhodaceae. Diss. Univ. Utrecht, 1935.
79. Ruhland W. Beiträge zur Physiologie der Knallgasbakterien. Jahrb. Wiss. Bot., Bd. 63, S. 321, 1924.
80. Söhngen N. L. Über Bakterien, welche Methan als Kohlenstoff- und Energiequelle gebrauchen. Ctbl. Bakt. Abt. II, Bd. 15, S. 513, 1906.
81. Starkey R. L. Concerning the carbon and nitrogen nutrition of Thiobacillus thiooxydans, an autotrophic bacterium oxidizing sulfur under acid conditions. J. Bact., v. 10, p. 165, 1925.
82. Starkey R. L. Products of the oxidation of thiosulfate by bacteria in mineral media. J. Gen. Physiol., v. 18, p. 325, 1935.
83. Starkey R. Isolation of some bacteria which oxidize thiosulfate. Soil Sci., v. 39, p. 197, 1935.
84. Starkey R. L. Precipitation of ferric hydrate by iron bacteria. Science, v. 120, p. 532, 1945.
85. Trautwein K. Beiträge zur Physiologie und Morphologie der Thionsäurebakterien. Ctbl. Bakt. Abt. II, Bd. 53, S. 513, 1921.
86. Umbreit W. W. Problems of autotrophy. Bact. Review, v. II, p. 157, 1947.
87. Vogler K. and Umbreit W. The necessity for direct contact in sulfur oxidation by Thiobacillus thiooxydans. Soil Sci., v. 51, p. 331. 1941.
88. Vogler K. G. The presence of an endogenous respiration in the autotrophic bacteria. J. Gen. Physiol., v. 25, p. 617, 1941.

89. Vogler K., Le Page G. and Umbreit W. W. Studies on the metabolism of autotrophic bacteria. I. The respiration of Thiobacillus thiooxidans on sulfur. J. Gen. Physiol., v. 26, p. 89, 1942.
90. Vogler K. G. Studies on the metabolism of the autotrophic bacteria. II. The nature of the chemosynthetic reaction. J. Gen. Physiol., v. 26, p. 103, 1942.
91. Vogler K. G. and Umbreit W. W. Studies on the metabolism of autotrophic bacteria. III. The nature of the energy storage material active in the chemosynthetic process. J. Gen. Physiol., v. 26, p. 157, 1942.
92. Waksman S. A. and Joffe J. S. Microorganisms concerned in the oxidation of sulfur in the soil. II. Thiobacillus thiooxydans, a new sulfur oxidizing organism isolated from the Soil. J. Bact., v. 7, p. 239, 1922.
93. Waksman S. A. and Madhok M. R. Influence of light and heat upon the processes of ammonia oxidation and nitrate reduction in soil. Soil Sci., v. 44, p. 361, 1937.
94. Wight K. M. and Starkey R. L. Utilization of hydrogen by sulphatreducting Bacteria and its significance in anaerobic corrosion. J. Bact., v. 50, p. 238, 1945.
95. Winogradsky S. Über Schwefelbakterien. Bot. Ztg., Bd. 45, S. 489, 513, 529, 545, 569, 601, 1887.
96. Winogradsky S. Über Eisenbakterien. Bot. Ztg., Bd. 46, S. 262, 1888.
97. Winogradsky S. Recherches sur les organismes de la nitrification. Ann. Inst. Past., v. 4, p. 213, 257, 760; v. 5, p. 32, 577, 1890.
98. Winogradsky S. Eisenbakterien als Anorgoxydanten. Ctbl. Bakt. Abt. II, Bd. 57, S. 1, 1922.
99. Winogradsky S. et Winogradsky H. Etudes sur la microbiologie du sol. Nouvelles recherches sur les organismes de la nitrification. Ann. Inst. Past., v. 50, p. 350, 1933.
100. Winogradsky Hélène. Sur la microflore mitrificatrice des bues activées de Paris. C. R., v. 200, p. 1886, 1935.
101. Yoshimura S. Kata-numa, a very strong acid-water lake on vulcano Katanuma. Miyadi perfecture, Japan. Arch. Hydrobiol., v. 26, p. 197, 1933.
102. ZoBell C. E. Marine microbiology. A monograph on hydrobacteriology. Waltham Mass USA. 1946.
103. ZoBell C. E. Action of microorganisms on hydrocarbons. Bact. Rev., v. 10, p. 1, 1946.
104. ZoBell C. E. Microbial transformation of molecular hydrogen in marine sediments with particular reference to petroleum. Bull. Am. Ass. Petr. Geologists, v. 31, p. 1709, 1947.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ: МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ

Johnson F. and Baker R. **The electron and light microscopy of Beggiatoa. (Электронная и световая микроскопия Beggiatoa).** J. Cell. Comp. Physiol., v. 30, No. 2, pp. 131—145, 1947.

Проводилось сравнительное исследование Beggiatoa в световом микроскопе и в электронном с напряжением в 50 и 150 kV. Чистую культуру Beggiatoa авторам получить не удалось, и поэтому работа проводилась с накопительной культурой из сточной жидкости.

В обычном микроскопе снимки делались с живых движущихся нитей при специальном освещении в течение миллионных долей секунды. Для электронного микроскопа применялись высушенные препараты на пленке.

В световом микроскопе видны включения серы. Клеточные перегородки видны только в тех нитях, где серы мало. Жгутиков не видно ни в темном, ни в светлом поле.

В электронном микроскопе при напряжении в 50 kV такие толстые объекты, как Beggiatoa, получаются непрозрачными. В отдельных нитях удается различить круглые включения. При напряжении в 150 kV нити более прозрачны и в них хорошо видны включения, которые несомненно являются каплями серы. Сера возгоняется в электронном микроскопе, и тогда вместо включений видны круглые пустоты. То же наблюдается и при растворении серы сероуглеродом. В электронный микроскоп видны клеточные перегородки и наружная оболочка, одевающая нить. Между протоплазмой и оболочкой часто встречаются тельца размером 0,2—0,4 × 1—3 Значение этих телец остается невыясненным. В обычный микроскоп они не видны. Жгутики не обнаружены и при исследовании в электронном микроскопе.

И. Работнова

Shropshire R. F. **Bacterial dispersion by sonic energy. (Диспергирование бактерий звуковой энергией).** J. Bact., v. 54, No. 3, pp. 325—331, 1947.

Бактерии, образующие конгломераты, подвергались действию звуковых волн с 9 000 колебаний в секунду. Суспензии бактерий помещались в металлическую чашечку, у которой дно являлось колеблющейся мембраной. Цепочки B. subtilis, гемолитического стрептококка, гроздья St. albus распадались при этом на отдельные клетки в течение нескольких минут. Такой метод получения хорошо диспергированных суспензий является очень эффективным.

И. Работнова

Bentley O., Snell E., Phillips P. **A microbiological method for determination manganese. (Микробиологический метод определения марганца).** J. Biol. Chem., v. 170, № 1, pp. 343—350, 1947.

Описан метод определения марганца при помощи молочнокислых бактерий L. arabinosus 17—5, аналогичный известным методам определения витаминов и аминокислот. Этот метод особенно рекомендуется при очень низком содержании марганца или в тех случаях, когда в испытуемом материале содержатся вещества, мешающие химическому анализу, например железо. Бактерии выращиваются на синтетической среде, содержащей гидролизат казеина, 7 витаминов группы B, урацил, аденин, гуанин. В этой среде содержится небольшое количество Mn в виде примеси. Это количество марганца удаляется при помощи тех же бактерий. Среда предварительно заражается L. arabinosus, и за 24 часа бактерии успевают поглотить весь имеющийся в ней марганец. После этого бактерии центрифугируются, среда нейтрализуется, вновь добавляются витамины и среда употребляется для анализа. Без добавления Mn на такой среде бактерии не развиваются и почти не образуют кислоты. При добавлении 100 γ Mn на 10 см³ кислотность достигает 15,7 см³ 0,1*N* на 10 см³. При добавлении от 0,1 до 0,5 γ Mn на 10 см³ нарастание кислотности идет очень резко, а при дальнейшем увеличении количества Mn кривая кислотности идет

более полого. Для анализа используется только крутая часть кривой от 0,1 до 0,5 γMn на 10 см³. О количестве Mn в испытуемом веществе судят по той кислотности, которую вызывает его добавление к культуре. Валентность Mn не имеет значения. $MnSO_4 . H_2O$ и $KMnO_4$ дают одинаковые кривые кислотности. При сравнении микробиологического метода с химическим (по периодату) расхождение между обоими методами не превышало 10%. При определении Mn в растительных или животных тканях рекомендуется озоление последних, но можно применять и кислотные гидролизаты тканей. Так как предварительное культивирование бактерий для удаления марганца не делает среду менее полноценной, очевидно, что другие микроэлементы не адсорбируются бактериями.

И. Работнова

Kelner A. **Secondary colonies of bacteria induced by salts of alkali metals with special reference to Chromobacterium violaceum and other bacteria on lithium chloride agar. (Вторичные колонии бактерий, вызываемые солями щелочных металлов. В частности о Chromobacterium violaceum и других бактериях на агаре с хлористым литием).** Amer. Journ. Botany, v. 34, No. 3, pp. 105—112, 1947.

Культура C. violaceum, выделенная из речной воды и полученная из 1 клетки, обильно дает вторичные колонии при культивировании на МПА с добавлением LiCl в концентрации 0,12 *M*. Почти все материнские колонии через 4—7 дней покрываются более интенсивно пигментированными бугорками, часто сливающимися друг с другом. На среде без лития вторичные колонии не образуются. NaCl, KCl, RbCl в концентрации 0.2—0,3 *M* также вызывают образование вторичных колоний, но несколько отличных от тех, которые образуются от воздействия литием. Кроме C. violaceum, вторичные колонии на среде с Li образуют аэробные спорообразующие почвенные бактерии. Не образуют вторичных колоний Aer. aerogenes. Alc. faecalis, B. coli, Ps. fluorescens, B. prodigiosum, St. aureus, S. flava. Клетки материнской колонии отмирают через 10 дней, а клетки дочерних колоний остаются жизнеспособными длительное время. При развитии культуры среда подщелачивается. Чем больше щелочность, тем сильнее ядовитое действие лития. Материнская колония быстро погибает, а возникающие в ней более устойчивые мутанты дают вторичные колонии. По физиологическим признакам мутант почти не отличается от исходной культуры. Единственным отличительным признаком его является то, что при высеве на агар с литием он не дает через 4—7 дней вторичных колоний. При пересевах мутант довольно стоек. Одна культура не возвращалась к исходному состоянию в течение 33 месяцев. Другие культуры возвращались в исходное состояние довольно быстро.

И. Работнова

Gaughran E. **The thermophilic microorganisms. (Термофильные микроорганизмы** Bact. Rev., v. VII, pp. 189—225, 1947.

Статья Gaughran представлчет обзор работ по изучению группы термофильных микроорганизмов. Автором приводится обширная литература, состоящая из 284 наименований. Вся цитируемая литература распределяется по следующим главам:

1. Классификация термофильных микроорганизмов.
2. Распространение термофильных микроорганизмов.
3. Объяснение устойчивости к нагреванию и рост при повышенных температурах.
4. Условия развития термофилов:
   а) Рост при повышенных температурах.
   б) Рост при низких температурах.
5. Адаптация микроорганизмов к температуре.
6. Выводы. Значение термофильных микроорганизмов.

Автор приводит обширную литературу, указывающую на широкое распространение термофильных микроорганизмов в природе.

Среди термофилов встречаются все те же группы микробов, которые известны у мезофилов. Многообразие существующих форм термофильных микробов и их существование при температурах от 50 до 90° заставили многих исследователей выделить эти микроорганизмы как отдельную группу.

Автор подробно останавливается на предложенных различными исследователями классификациях термофилов и указывает, что наиболее удачное определение этих групп сделано советскими учеными Имшенецким и Солнцевой.

Эти авторы предложили к термофильным микроорганизмам отнести все те виды микробов, для которых физиологический оптимум роста лежит между 55—60°. Среди них могут быть как виды, развивающиеся при сравнительно низких температурах (эвритермные термофилы), так и виды, не размножающиеся при этих температурах (стенотермные термофилы). Останавливаясь подробно на вопросе о происхождении термофильных микроорганизмов, автор присоединяется к исследователям

(Rabinowitsch, Schillinger, Tziklinsky, Имшенецкий и др.), которые считают, что термофильные микроорганизмы произошли от мезофилов путем постепенной адаптации их к повышенной температуре. Детально анализируя работы, касающиеся сбраживания целлюлозы термофилами, автор приходит к выводу, что эта проблема не является еще достаточно изученной. Существование целлюлозных бактерий в симбиозе с другими микроорганизмами является основной причиной, затрудняющей эти исследования. Автор подвергает сомнению чистоту культур аэробных и факультативно аэробных целлюлозных бактерий, описанных в работах целого ряда исследователей (Fred и Peterson, Peterson и Snieszko и некоторых других авторов).

Симбиотическая природа большинства изолированных культур целлюлозных бактерий была наглядно показана в работах Buswell и Hatfield, Имшенецкого, Ротмистрова и других.

При изучении группы микроорганизмов, осуществляющих распад целлюлозы в анаэробных условиях, Имшенецкому удалось показать, что истинные целлюлозные бактерии гидролизируют целлюлозу главным образом до глюкозы, сбраживание последней производится сопутствующими бактериями. Вопрос о способности термофильных организмов выполнять нормально жизненные процессы при высоких температурах давно интересовал многих исследователей, однако экспериментальных данных, накопленных по этому вопросу, пока еще недостаточно.

Miquel высказал предположение, что клетки термофилов содержат особого типа протоплазму. Устойчивость термофильных микроорганизмов к высокой температуре Virtanen объяснял прочной связью энзима с клеточным протеином.

Работы многих исследователей были посвящены изучению состава жиров у термофилов. Так, исследованиями Pearson и Raper, Gaughran, Terroine и другими было показано, что при повышенных температурах образуются жиры с насыщенными связями. Изменение степени проницаемости клеточной оболочки, количество связанной воды в клетке, содержание зольных элементов и другие факторы могут обусловливать устойчивость термофильных организмов к температуре. Ускорение биологических процессов при высоких температурах является характерной особенностью термофилов. Hansen показал, что ферментативная активность у молочнокислых термофилов в 30 раз энергичнее, чем у Streptococcus lactis при 20°.

Исследования Имшенецкого также указывают, что протеолиз, денитрификация и гидролиз крахмала, производимые термофильными бактериями, происходят в 7—14 раз скорее, чем культурами мезофильных бактерий.

В заключение автор указывает, что проблема термобиоза представляет не только академический интерес, но имеет широкое практическое значение.

Л. Логинова

Kluyver A. and Schnellen Ch. **On the fermentation of carbon monoxide by pure cultures of methane bacteria. (О сбраживании окиси углерода чистыми культурами метановых бактерий).** Arch. of Biochem., v. 14, No. 1—2, pp. 57—70, 1947.

Обычно брожением называют анаэробный распад, при котором субстрат распадается на 2 или более части, из которых одна более, а другая менее окислена, чем субстрат. В этом смысле CO не может быть сброжена. Но если брожением считать анаэробное превращение субстрата в более и менее окисленные соединения, то в этом смысле CO может быть «сброжена» в CO_2 и CH_4, а следовательно, может явиться источником жизни для микроорганизмов. В работе изучалось брожение окиси углерода. Исследовались Methanosacrina Barkeri (открытая Клюйвером), Methanobacterium formicicum и Methanobacterium Omelianskii. Первая культивировалась на метиловом спирту, вторая — на муравьинокислом Na и третья — на этиловом спирту. Анализировались образующиеся газы. Опыты велись с суспензиями бактерий, полученными из осадка отбродившей культуры, помещенными в специальном приборе в смесь CO и H_2. M. Barkeri и M. formicicum поглощают CO и выделяют CH_4. Реакция идет по уравнению:

$$CO + 3H_2 \rightarrow CH_4 + H_2O.$$

В начальной стадии образуется CO_2. Реакция, очевидно, двухступенчатая:

$$CO + H_2O \rightarrow CO_2 + H_2$$
$$CO_2 + 4H \rightarrow CH_4 + 2H_2O.$$

Авторы предположили, что процесс пойдет и без водорода, раз он сам выделяется. Действительно, в смеси CO и N_2 идет сбраживание CO с выделением CO_2 и CH_4:

$$4CO + 4H_2O \rightarrow 4CO_2 + 4H_2$$
$$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$$
$$4CO + 2H_2O \rightarrow 3CO_2 + CH_4$$

M. Barkeri может сбраживать даже чистую окись углерода, а M. formicicum не выносит более, чем 14% CO. Если выделяющуюся углекислоту поглотить щелочью, то остается неиспользованный водород. M. Omelianskii не сбраживает CO. Он восстанавливает CO_2 в CH_4. При этом CO не является промежуточным продуктом.

Размножение бактерий не учитывалось.

И. Работнова

Bhat I. V. and Barker H. A. **Cl. lacto-acetophilum n. sp. and the role of acetic acid in the butiric acid fermentation of lactate. (Cl. lacto-acetophilum n. sp. и роль уксусной кислоты в маслянокислом брожении лактата).** J. Bact., v. 54, No. 3, pp.381—393, 1947.

Маслянокислое брожение лактата известно только в смешанной культуре. Получить чистую культуру удалось лишь Beynum и Pette, хотя попыток было много. Однако указанные авторы наблюдали маслянокислое брожение лактата чистой культурой лишь в присутствии такого большого количества дрожжевого автолизата, что неизвестно, что служило источником углерода — лактат или автолизат.

Авторы реферируемой статьи выделили из почв 9 чистых культур бактерий, очень близких к маслянокислым, которые сбраживали лактат лишь в среде, содержащей 30% дрожжевого автолизата. Оказалось, что если к среде добавить ацетат, то брожение лактата идет и без такого большого количества автолизата. Исключить автолизат совсем не удается. Он нужен в небольшом количестве, 0,5%, как источник витаминов. Кроме того, нужен еще биотин и *p*-амино-бензойная кислота.

Бактерии могут сбраживать сахара и пировиноградную кислоту. При этом не только не требуется ацетата, но он накапливается в большом количестве наряду с масляной кислотой. При сбраживании лактата чистой культурой образуется масляная кислота, CO_2 и H_2.

Авторы предлагают следующую схему брожения:

$$CH_3CHOH\,COOH + H_2O = CH_3COOH + CO_2 + 4H$$
$$2H = H_2$$
$$2CH_3COOH + 4H = CH_3CH_2CH_2COOH + 2H_2O$$

Лактат окисляется в уксусную кислоту и CO_2. Далее идет восстановительная конденсация ацетата в масляную кислоту. При этом необходимо дополнительное количество ацетата. Возможно, что в большом количестве дрожжевого автолизата как раз и содержится необходимый ацетат.

И. Работнова

Simon E. **Investigation on the aceton-butyl alcohol fermentation. (Исследование ацетоно-бутилового брожения).** Arch. of Biochem., v. 14, No. 1—2, pp. 31—51, 1947.

В предыдущей работе (см. реф. в журн. «Микробиология», т. XVII, в. 1, 1948) автор исследовал пути распада сахара в ацетоно-бутиловом брожении. В этой работе он столкнулся с фактами, указывающими на то, что в ацетоно-бутиловом брожении распад сахара с самого начала идет иным путем, чем в спиртовом брожении.

В настоящей работе исследовалась связь между структурой субстрата и образованием четырехуглеродных соединений, характерных для ацетоно-бутилового брожения.

Брожение осуществлялось суспензиями свежих клеток и бактериями, высушенными в ацетоне. Соединения с семью углеродными атомами не сбраживаются. Шестиуглеродные сахара и их производные нормально сбраживаются, независимо от того, какая группировка стоит у первого углерода. При шестом углеродном атоме обязательно должен быть гидроксил, для того чтобы образовывалась масляная кислота. Если шестой углерод фосфорилирован, то образуется метилглиоксаль и пировиноградная кислота. Пентозы сбраживаются так же, как и гексозы, с образованием четырехуглеродных соединений. Четырехуглеродный эритрит не сбраживается. Трехуглеродные соединения, являющиеся промежуточными продуктами при спиртовом брожении,— пировиноградная, фосфоглицериновая, глицеринфосфорная кислоты и глицеринальдегид — не дают масляной кислоты и, за исключением пировиноградной кислоты, не сбраживаются вовсе. Из пировиноградной кислоты образуется только уксусная.

Двухуглеродные соединения — гликоль и гликолевый альдегид — не сбраживаются. Одноуглеродный формальдегид — также.

Таким образом, химизм ацетоно-бутилового брожения весьма отличен от химизма спиртового брожения.

И. Работнова

ХРОНИКА

КОНФЕРЕНЦИЯ ПО СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

В апреле 1948 г. в Москве происходила конференция по сельскохозяйственной микробиологии, организованная Всесоюзной академией сельскохозяйственных наук имени В. И. Ленина и Всесоюзным институтом сельскохозяйственной микробиологии. В настоящей заметке дается краткий обзор работы конференции.

В конференции приняли участие около 70 научных учреждений Советского Союза: научно-исследовательские институты, лаборатории, опытные селекционные станции, сельскохозяйственные институты и заводы бактериальных удобрений.

Работа конференции проходила по секциям:

1. Почвенной микробиологии и бактериальных удобрений (по количеству сделанных докладов и по количеству участников эта секция была представлена наиболее многочисленно).
2. Борьбы с потерями в сельском хозяйстве.
3. Молочной и животноводческой микробиологии.
4. Переработки сельскохозяйственных продуктов.

Конференция открылась 15 апреля.

С докладом о задачах сельскохозяйственной микробиологии в послевоенной сталинской пятилетке выступил доктор биологических наук проф. К. И. Рудаков. В своем докладе он остановился на первоочередных задачах, стоящих перед сельскохозяйственной микробиологией в ближайшие годы.

Доклад проф. К. И. Рудакова вызвал оживленные прения.

Большое внимание и обстоятельное обсуждение вызвали доклады, посвященные определению с помощью микробиологических подходов типа почвы и ее плодородия.

К этой группе докладов относятся: доклад доктора биологических наук проф. Е. Н. Мишустина «Микробный ценоз и почвенные типы», доклад проф. Н. М. Лазарева «Экологическая микробиология и изучение почвенного плодородия», доклад В. Н. Былинкиной «Аутохтонная микрофлора «Б» и ее роль в почве».

Было сделано несколько сообщений, посвященных вопросам образования гумуса и его роли в образовании прочной структуры почвы. Из отдельных докладов по этому разделу, отражающих различные точки зрения, следует отметить: доклад доктора биологических наук М. М. Кононовой «О так называемом лигно-протеиновом комплексе Вакcмана, как о ядре гумуса», доклад Ф. Ю. Гельцер «Роль ризосферных бактерий в образовании деятельного перегноя почвы» и доклад Е. М. Теппер «Последовательное участие отдельных групп микроорганизмов в аэробном разложении яровой соломы и образовании при этом гумусоподобных веществ».

Эти доклады вызвали также оживленный обмен мнений.

Из других докладов по секции Почвенной микробиологии и бактериальных удобрений следует отметить: доклад доктора биологических наук проф. М. В. Федорова «Влияние на фиксацию азота атмосферы азотобактером азотистых веществ различной химической структуры», доклад доктора биологических наук Е. Ф. Березовой «Микрофлора корневой системы и ее роль в развитии растения», проф. И. А. Макринова «Об аэробных, азотистых органических удобрениях и их особенностях».

Из заслушанных докладов выяснилось, что ряд вопросов, связанных с применением бактериальных удобрений, необходимо доработать, чтобы повысить эффективность данных удобрений и устранить все факторы, тормозящие их использование.

Ряд интересных и важных вопросов обсуждался и на других секциях конференции.

По секции «Борьбы с потерями в сельском хозяйстве» были заслушаны ряд докладов по бактериозам (черном бактериозе пшеницы, кольцевой гнили картофеля, слизистом бактериозе капусты, бактериальном раке томатов, зеленой пятнистости огурцов, новом бактериальном заболевании абрикосов и других болезнях, от которых страдают сельскохозяйственные растения).

По секции «Молочной и животноводческой промышленности» был представлен ряд докладов, освещающих чисто животноводческие проблемы, как, например, об изучении желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных, о применении ацидофильных культур в животноводстве (проф. А. Ф. Войткевич), о силосовании неизмельченной растительной массы и т. д.

Были зачитаны также доклады, освещающие вопросы, связанные с микробиологией молока и молочных продуктов. (Изучение диэтических молочнокислых продуктов гомо- и гетероферментативного молочнокислого брожения, изучение бактериофага в молоке и молочных продуктах и т. д.).

В секции «Переработки сельскохозяйственных продуктов» были также объединены две группы вопросов. В подсекции обработки лубяных растений были заслушаны результаты исследований по выяснению условий мацерации лубяных растений и способов их биологической обработки (доктор наук Г. Л. Селибер) и по анаэробной мочке льна. В подсекции виноделия разбирались вопросы, посвященные изучению микробиологии виноделия, биологии плодовых, ягодных и винных дрожжей, изучению окислительно-восстановительного потенциала и состава вина под хересной пленкой и другие.

В результате работы отдельных секций конференции были созданы соответствующие комиссии, которые обсудили относящиеся к ним доклады и составили проекты программы дальнейшей работы.

Программа научно-исследовательской работы на ближайшее время по всем разделам сельскохозяйственной микробиологии, в качестве проекта, была поставлена на обсуждение конференции и принята единогласно.

● 24 октября по старому стилю исполняется 45 лет существования в Ленинграде Микробиологического общества. Первое заседание в 1903 г. было открыто председателем С. Н. Виноградским; товарищем председателя был избран Н. Я. Чистович, секретарями Д. К. Заболотный и В. Л. Омелянский, казначеем В. К. Варлих. В приветственной речи председатель отметил, что в состав Общества входят биологи, медики, ботаники, химики, агрономы и т. д. и что будущая деятельность Общества должна представлять гармоническое сочетание различных отраслей микробиологии.

На первом заседании В. Л. Омелянский сделал доклад «О гистологическом изменении стебля льна под влиянием микробов»; П. О. Зибер-Шумова выступила с докладом на тему «О действии оксидаз на сахар», А. А. Владимиров демонстрировал препараты трипанозом и сообщил о способе их размножения.

● Исполнилось 20 лет со дня смерти акад. В. Л. Омелянского, скончавшегося 21 апреля 1928 г. в Гаграх от кровоизлияния в мозг. В. Л. был ближайшим сотрудником С. Н. Виноградского и после оставления С. Н. Виноградским в 1906 г. заведывания отделом общей микробиологии, занял эту должность сначала как исполняющий обязанности, а с 1912 г. после ухода С. Н. в отставку и переезда за границу был назначен заведующим этим отделом. Исследования Омелянского касались различных областей микробиологии: нитрификации, усвоения газообразного азота, разложения клетчатки и т. п. Его учебник «Основы микробиологии» пользуется славой лучшего руководства по микробиологии и с 1909 г. выдержал 9 изданий.

СОДЕРЖАНИЕ

Б. И. Клейн и В. Н. Шур-Шульц. Влияние бактериофага на ферментативные системы бактериальной клетки 229

А. Е. Крисс, С. И. Диденко и Е. А. Стрельцова. О природе бактериофага. IV. Литическая активность бактериофага как показатель состояния фагового корпускула 233

С. В. Горюнова. Получение бактериологически чистых культур водорослей при помощи комбинированных сред 243

Н. В. Крупин. Влияние грамицидина С на морфологию и физиологию микробов. II. Влияние грамицидина С на пигментообразование у стафилококков 248

З. А. Канунникова. Изменение физиологической активности Bact. Delbrückii 251

Т. В. Халабуда. Результаты исследований микофлоры почв 257

О. К. Паялдина, Т. А. Кротова, В. А. Мазюкевич и А. А. Аношкина. Нормальная ацидофильная флора кишечника, сбраживающая крахмал 269

М. Р. Гибшман. Изменчивость молочнокислых стрептококков. I. Диссоциация гетероферментативных стрептококков 279

М. И. Гольдин, О реакции петуньи на вирус мозаики помидоров 290

С. Л. Соболь. Мартын Тереховский (1740—1796) и его диссертация о природе наливочных анималькулей 294

С. И. Кузнецов. Проблема автотрофии у микроорганизмов (обзор) . . . 307

Рефераты 319

Хроника 323

Подписано к печати 16. VII 1948 г. А06492 Уч.-изд. л. 9,8
Тираж 3450 экз. Заказ 978 6 печ. л.+2 вклейки

2-я типография Из-ва Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., д. 10

Цена 9 руб.